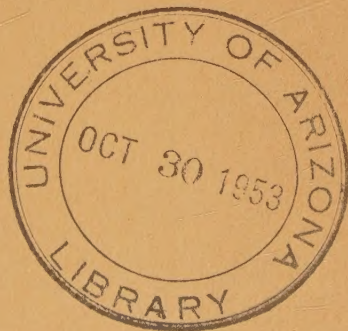


ARCHIVES  
DE  
L'INSTITUT DE BOTANIQUE

sous la direction  
du Professeur Ray. BOUILLENNE

SOMMAIRE

1. R. NOEL. Néoformation des racines dans les fragments d'hypocotyles d'*Impatiens balsamina* L., cultivés « in vitro ».
2. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. De l'influence des hormones végétales de synthèse sur la croissance de *Fusarium vasinfectum*.
3. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Action de certaines phytohormones sur la croissance des champignons inférieurs : *Trichophyton* div. sp., *Staphilococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Pseudomonas aeruginosa*.
4. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Influence du pH sur l'action inhibitrice des hormones végétales de synthèse dans la croissance de *Trichophyton* div. sp.
5. C. SIRONVAL. Essai sur la floraison de *Begonia semperflorens* LINK. et OTTO dans le Phytotron.
6. C. SIRONVAL. Progression discontinue de la formule dentaire chez le fraisier des quatre-saisons à fruits rouges.



Les Éditions de  
LEJEUNIA  
Liège 1951

580.6  
L71  
v. 21  
1951

## CORRESPONDANCE ET ÉCHANGES

Pour tout ce qui concerne les ARCHIVES DE L'INSTITUT DE BOTANIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE, nous vous demandons de vouloir bien envoyer la correspondance à l'adresse suivante

M. le SECRÉTAIRE des ARCHIVES de  
l'INSTITUT DE BOTANIQUE de l'UNIVERSITÉ de LIÈGE.

3, rue FUSCH, LIÈGE. (Belgique).

LES PRODUITS  POUR LABORATOIRES

# conscience





Produits pour analyse  
Produits spéciaux  
Produits purs  
Solutions titrées  
Réactifs de la Pharmacopée Belge (IV. ed)

**UNION CHIMIQUE BELGE, S. A.**  
51, AVENUE LOUISE • BRUXELLES • TELEPHONE: 37 12 20 • R.C.B.4451

# PRODUITS PHYTOPHARMACEUTIQUES

vendus sous la marque



HERBICIDES - FONGICIDES - INSECTICIDES  
HORMONES VÉGÉTALES

**SOCIÉTÉ BELGE DE L'AZOTE**  
*et des*  
**PRODUITS CHIMIQUES DUMARLY**



5 GRANDES MARQUES

5 GRANDS SUCCÈS EN CULTURE

AGROXONE-LIN

pour le désherbage du lin-fibres

AGROXONE 30

pour le désherbage des céréales,  
prairies et pelouses

HERBISEL

& HERBISEL-AMINE

pour le désherbage des céréales  
d'hiver, des prairies et des étangs

BRUSHKILLER 245

dernière nouveauté pour le débrous-  
saillement et le dégagement en sylvi-  
culture.

Ce sont des produits **SOLVAY-PLANT PROTECTION**

vendus par SELCHIM, S. A. 412, avenue Louise, Bruxelles. - Tél. 48.64.85

Consultez notre Service Technique spécialisé.

Em. & P. **BODSON** (P. & F.)

6, Quai Saint-Léonard

LIÈGE

MICROSCOPES

MONO & BINOCULAIRES

MICROTOMES

BALANCES d'ANALYSES

Téléphone (04) 23.32.05.

Télégrammes - Calibre Liège

ARCHIVES  
DE  
L'INSTITUT DE BOTANIQUE

sous la direction  
du Professeur Ray. BOUILLENNE

SOMMAIRE

1. R. NOEL. Néof ormation des racines dans les fragments d'hypocotyles d'*Impatiens balsamina* L., cultivés « in vitro ».
2. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. De l'influence des hormones végétales de synthèse sur la croissance de *Fusarium vasinfectum*.
3. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Action de certaines phytohormones sur la croissance des champignons inférieurs : *Trichophyton* div. sp., *Staphilococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Pseudomonas aeruginosa*.
4. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Influence du pH sur l'action inhibitrice des hormones végétales de synthèse dans la croissance de *Trichophyton* div. sp.
5. C. SIRONVAL. Essai sur la floraison de *Begonia semperflorens* LINK. et OTTO dans le Phytotron.
6. C. SIRONVAL. Progression discontinue de la formule dentaire chez le fraisier des quatre-saisons à fruits rouges.



Digitized by the Internet Archive  
in 2025

*A mes Parents,*

*A ma Femme,*



*A Monsieur le Professeur et Madame R. Bouillenne-Walrand*



# TABLE DES MATIÈRES

|                                                                                                                                        | Pages |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Introduction ... ..                                                                                                                    | 7     |
| Techniques ... ..                                                                                                                      | 14    |
| Expériences préliminaires ... ..                                                                                                       | 19    |
| Etude des variations individuelles ... ..                                                                                              | 19    |
| Etude comparative du nombre des racines observées<br>sur les hypocotyles vivants et sur les hypocotyles<br>fixés et éclaircis ... ..   | 21    |
| Chapitre I — <i>Etude approfondie de la germination et de la<br/>croissance sur les plantules de IMPATIENS BAL-<br/>SAMINAL</i> ... .. | 27    |
| I. Variations du poids des graines ... ..                                                                                              | 28    |
| II. Influence de la hauteur d'eau et de la durée de<br>trempage sur le comportement des graines ... ..                                 | 30    |
| III. Influence de la température au cours de la ger-<br>mination... ..                                                                 | 39    |
| IV. Etude de la croissance de l'hypocotyle ... ..                                                                                      | 40    |
| V. Anatomie et histologie de l'hypocotyle ... ..                                                                                       | 46    |
| Conclusions ... ..                                                                                                                     | 50    |
| Chapitre II — <i>Etude de la néoformation raculaire sur les<br/>hypocotyles entiers</i> ... ..                                         | 51    |
| I. Néoformation raculaire des hypocotyles munis<br>de leurs cotylédons ... ..                                                          | 52    |
| II. Néoformation raculaire des hypocotyles sans<br>cotylédons ... ..                                                                   | 55    |
| III. Etude des processus de la néoformation raculaire<br>dans les root-tests inanitiés ... ..                                          | 59    |
| IV. Réponse rhizogénique des hypocotyles de plantes<br>adultes, à la présence des feuilles, et Conclusions                             | 62    |
| Chapitre III. — <i>Etude de l'influence de la fragmentation des<br/>hypocotyles sur leur néoformation raculaire</i> ... ..             | 68    |
| A. Pourcentage de nécrose des fragments ... ..                                                                                         | 72    |
| B. Comportement des fragments au cours de la culture                                                                                   | 74    |
| Résultats expérimentaux ... ..                                                                                                         | 78    |
| Conclusions ... ..                                                                                                                     | 84    |

|                                                                                                                                              |                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <b>Chapitre IV — Etude de la néoformation radriculaire dans les hypocotyles d'âges différents, fragmentés tous de la même manière ... ..</b> | <b>87</b>      |
| A. Matériel non-inanitié ... ..                                                                                                              | 89             |
| 1. poils radicaux ... ..                                                                                                                     | 89             |
| 2. allongement des fragments ... ..                                                                                                          | 90             |
| 3. néoformation radriculaire ... ..                                                                                                          | 91             |
| B. Matériel inanitié ... ..                                                                                                                  | 100            |
| néoformation radriculaire ... ..                                                                                                             | 102            |
| C. Comparaison matériel non-inanitié, matériel inanitié                                                                                      | 109            |
| Conclusions ... ..                                                                                                                           | 116            |
| <br><b>Chapitre V — Etude de l'action de l'inanition sur le comportement métabolique de la plantule de IMPATIENS BALSAMINA L ... ..</b>      | <br><b>118</b> |
| I. Etude des principaux constituants chimiques ... ..                                                                                        | 118            |
| A. Teneur en eau ... ..                                                                                                                      | 119            |
| B. Teneur en cendres ... ..                                                                                                                  | 123            |
| C. Teneur en azote ... ..                                                                                                                    | 126            |
| D. Teneur en sucres totaux ... ..                                                                                                            | 127            |
| E. Teneur en éléments liposolubles ... ..                                                                                                    | 128            |
| F. Substances spéciales :                                                                                                                    |                |
| 1. Auxine ... ..                                                                                                                             | 132            |
| 2. Coloration jaune des extraits chloroformiques et aqueux ... ..                                                                            | 134            |
| 3. Ferments ... ..                                                                                                                           | 137            |
| II. Etude des échanges respiratoires ... ..                                                                                                  | 138            |
| I. Intensité respiratoire ... ..                                                                                                             | 140            |
| II. Quotient respiratoire ... ..                                                                                                             | 145            |
| Conclusions ... ..                                                                                                                           | 148            |
| <br><b>Résumé et conclusions générales ... ..</b>                                                                                            | <br><b>152</b> |

**Contribution à l'étude de la Rhizogenèse**  
**NÉOFORMATION DES RACINES**  
**DANS LES**  
**FRAGMENTS D'HYPOCOTYLES**  
**D'*IMPATIENS BALSAMINA* L.**  
**CULTIVÉS « IN VITRO »**

par

**Raymond NOËL**

Docteur en Sciences  
Chargé de Recherches au F.N.R.S

---

**INTRODUCTION**

Depuis une vingtaine d'années, à l'initiative du Professeur BOUILLENNE et sous sa direction, les Chercheurs du Laboratoire de Physiologie Végétale de l'Université de Liège s'intéressent au problème de la formation et de l'organisation des racines, chez les Plantes supérieures.

D'un important mémoire, réalisé en collaboration avec WENT (1933) (3), BOUILLENNE a pu tirer les conclusions principales suivantes :

« L'apparition et l'accroissement des méristèmes radiculaires (sur l'hypocotyle de *Impatiens Balsamina* L), dépendent uniquement, dans les premières phases du développement, de substances contenues dans les cotylédons. Ces substances sont de trois sortes :

- 1) rhizocaline (facteur spécifique d'organisation),

2) nutrition (entre autre hydrocarbonée) (les sucres se montrent facteur limitant dans des hypocotyles inanitiés),

3) action des oxydations cellulaires, qui sont contrôlées, dans les plantules, par les enzymes et qui ont pu être augmentées, dans nos expériences, par une élévation de la tension d'oxygène. »

Après l'assimilation de la rhizocaline aux auxines (WENT et THIMANN, en 1934) (29), BOUILLENNE reste à peu près seul à considérer que l'action des auxines ne peut être identifiée à celle de la rhizocaline. Il affirme, au 6<sup>me</sup> Congrès International de Botanique, en 1935 (4), qu'il ne faut pas attribuer aux auxines l'organisation, en structure de racines, des multiplications cellulaires déclenchées par les auxines. Il fait, en collaboration avec Mme BOUILLENNE-WALRAND, la démonstration de cette affirmation, dans un grand nombre d'expériences publiées en 1938 (5); il écrit :

« L'hétéroauxine n'est pas le facteur spécifique de la néoformation des racines. Lorsque l'hétéroauxine est mise en contact des hypocotyles inanitiés, elle est incapable d'augmenter le nombre des racines par rapport à des témoins non traités. Sur plantes adultes, la même dose d'hétéroauxine n'a pas une action constante. Un facteur individuel, lié aux phénomènes généraux du développement, de la photosynthèse, du métabolisme, intervient. Cette variation dans l'activité formatrice de racines montre bien que l'hétéroauxine et les auxines en général, ne peuvent pas être considérées comme le facteur spécial responsable de la différenciation de cellules vers la constitution des structures de racines. Nous pensons qu'elles sont efficaces, seulement, lorsqu'il existe, dans les boutures, le facteur spécial d'organisation appelé rhizocaline

par BOUILLENNE et WENT, en 1933, De plus, ce facteur disparaît dans les hypocotyles après plusieurs jours et l'hétéroauxine devient inactive. »

DELARGE, dans des travaux publiés en 1938, 1939 et 1940 (11 12 13) sur la culture des racines in vitro, aboutit, entre autres, à la conclusion suivante :

« La culture des méristhèmes radiculaires in vitro, telle que nous l'avons réalisée, nous permet d'affirmer que la vitamine B<sub>1</sub> conditionne la croissance des racines, et que l'hétéroauxine conditionne la prolifération radiculaire, dans la mesure où d'autres facteurs internes (rhizocaline) sont présents et se combinent avec elle. »

MOUREAU, en 1939 et 1940 (22 23 24) montre, sur des boutures de *Coleus Blumei*, que le complexe substantiel (rhizocaline) entre en combinaison avec l'hétéroauxine et est mobilisé, par celle-ci, vers les endroits d'application.

Ces expériences, et celles qu'il réalise personnellement, conduisent BOUILLENNE à revoir et à préciser sa conception de la rhizocaline. En particulier, le fait que, dans les hypocotyles inanitiés, il obtient quand même un certain nombre de racines réparties tout le long de l'hypocotyle, lui suggère, ainsi qu'il le déclare à l'A. F. A. S., en 1939 (6), que si, au début de ses recherches, il a cru mettre en évidence une translocation polaire du facteur morphogénétique, personnellement, aujourd'hui, sur la base d'expériences, dont l'une date de 1933, il incline à penser que la translocation observée n'est pas celle du facteur morphogénétique, mais bien celle de certains éléments non directement liés au phénomène, et fonctionnant comme facteur limitant, par exemple, les glucides. Le facteur organisateur de structure se comporterait, selon lui, comme s'il était distribué dans les cellules à partir desquelles

l'organe en question est néoformé, dès la différenciation par le méristème des tissus auxquels elles appartiennent.

Cette évolution dans la conception des processus de la rhizogenèse se poursuit au cours des nouvelles expériences réalisées pendant la guerre. Dans ces expériences, R. et M. BOUILLENNE, (7) (1947). montrent, en particulier, que, dans un hypocotyle *inanitié* de plante adulte, une première apparition, à sa base, de quelques racines grandissant fortement dans le milieu de culture, n'empêche pas l'apparition d'un nombre restreint de nouvelles racines à d'autres niveaux de l'hypocotyle, lorsque l'on découpe celui-ci. La présence d'hétéroauxine, en concentrations biologique ou réactionnelle, ne modifie pas cette rhizogenèse. Le potentiel radiculaire moyen, révélé au cours de cette expérience, pour un hypocotyle *inanitié* (plante adulte, âgée de 36 jours, ayant 15-16 feuilles) est d'environ 13 racines, avec maximum individuel de 21 racines. Ces racines représentent donc le potentiel radiculaire fixé de cet hypocotyle adulte, potentiel ayant résisté au processus d'inanition.

Dans une seconde expérience, sur des plantes adultes, âgées de 2 mois, les hypocotyles *non inanitiés* révèlent, à leur base, 14 racines, ce qui représente un potentiel presque équivalent au potentiel révélé dans la première expérience, par l'hypocotyle *inanitié*. La base de l'hypocotyle trempée pendant 5 heures dans une solution concentrée d'hétéroauxine puis cultivée sur milieu nutritif normal donne environ 21 racines. Quand le sommet de l'hypocotyle est plongé dans une solution concentrée d'hétéroauxine puis que l'hypocotyle est remis normalement en milieu nutritif, la base de l'hypocotyle révèle 19 racines mais 2 ou 3 racines apparaissent aussi au sommet. L'hé-

téroauxine attire donc vers les endroits d'application, une certaine quantité de facteur rhizogénique mobile, ce qui confirme les conclusions de WENT (1939) (31) sur la mobilisation de la rhizocaline par les auxines.

Conjointement avec cette mise en évidence des états mobile et fixé de la rhizocaline, SIRONVAL (1947) (28) montre que, dans le Fraisier des quatre saisons, il y a une simultanéité absolue, entre la présence de substances ortho-di-phénols et la néoformation radiculaire, et nous-même, (1947), (24<sup>b</sup>) en étudiant, par examen microscopique, la néoformation radiculaire, dès ses premières manifestations dans les cellules péricycliques, tout le long des boutures feuillées de Balsamine, nous sommes amené à conclure que cette rhizogenèse considérable, indépendante, au départ, de l'action des feuilles et se déclenchant immédiatement après l'enlèvement des racines primordiales, révèle, dans les cellules intéressées, un potentiel radiculaire fixé. Par contre, la formation de racines nouvelles apparaissant après cette période et se trouvant sous la dépendance de l'activité foliaire, doit démontrer la présence d'un facteur radicigène mobile, synthétisé dans les feuilles.

Peu après ces publications simultanées, dans une note publiée à l'Académie (8), R. et M. BOUILLENNE précisent cette théorie nouvelle de la rhizocaline. Ils écrivent :

« Nous sommes arrivés à mettre en évidence deux états successifs de la rhizocaline dans les plantes supérieures :

1) un état fixé, intégré dans les constituants de certains types de cellules, aussi bien au cours de la différenciation des tissus à partir des méristèmes de racines et de tiges que pendant les phases de l'embryogénèse.

2) un état mobile de la rhizocaline qui circule à partir

des feuilles où elle est synthétisée à la lumière. La rhizocaline mobile devient fixée par une réaction particulière de fixation dans laquelle l'auxine intervient.

La combinaison « rhizocaline mobile + auxine » se produit dans certaines cellules seulement (péricycle, cellules de phloème, cellules cambiales, etc... c'est-à-dire les types de cellules à partir desquelles on sait que les germes des racines sont généralement initiés.

La réaction de fixation est donc localisée. Elle est rendue possible par la présence, dans certaines cellules, d'un enzyme génétiquement synthétisé et distribué dans ces cellules, au moment de leur formation dans les méristèmes ou les embryons, grâce à des phénomènes de localisation de substances, ressemblant, selon nous à ceux qui ont été décrits au cours des phases de l'embryogénie animale.

Nous admettons donc que dans la rhizogénèse, au moins trois facteurs sont nécessaires, pour que certaines cellules puissent être le point de départ d'un germe racinaire !

Rhizocaline mobile + auxine + enzyme cellulaire oxydative. »

Etant donnée cette théorie, il apparaît important de déterminer, aussi exactement que possible, le potentiel racinaire du matériel expérimental :

- 1) dans l'embryon,
- 2) aux différents âges de l'hypocotyle,
- 3) avec et sans cotylédons,
- 4) après inanition.

Nous avons continué, pour nos recherches personnelles, à utiliser le matériel de plantules de *Impatiens Balsamina* L., dont les conditions de croissance sont déjà particulièrement connues dans le Laboratoire de Liège. Nous avons

cependant tenu à préciser l'incidence de certains facteurs tels que : poids des graines, prise d'eau, aération, sur le potentiel radiculaire de l'hypocotyle.

Nous nous sommes particulièrement attaché à déceler le potentiel total de ces hypocotyles et nous y avons réussi par des expériences de fragmentation.

Ensuite, nous avons cherché, dans ce potentiel, la part éventuelle qui reviendrait à un facteur mobile et à un facteur fixé.

Enfin, pour préciser le rôle de l'inanition dans la rhizogenèse, nous avons entrepris l'étude de son action dans l'hypocotyle, en ce qui concerne plus spécialement sa constitution chimique et le métabolisme révélé par ses échanges respiratoires.

---

## TECHNIQUES

Nous avons utilisé *Impatiens Balsamina* L, variété double-camelia, provenant originellement de la maison VILMORIN-ANDRIEUX, à Paris. Cette variété est cultivée depuis plusieurs années à l'Institut de Botanique de l'Université de Liège. Chaque année, on effectue la récolte des graines.

Pour la germination, on étend, au fond de grands bacs à fond plat, une couche assez épaisse d'ouate, que l'on imbibe d'eau de la distribution et que l'on recouvre d'une grande feuille de papier-filtre épais. Les graines, mises à tremper, depuis 24 heures, sous une mince épaisseur d'eau de la distribution, sont disposées, une à une, sur le papier-filtre. Chaque bac de culture peut contenir environ 1.000 graines. Les bacs sont alors placés dans une chambre noire, à la température constante de 26°C et à environ 95 % d'humidité. Dans ces conditions, l'obscurité est complète. L'humidité du substrat est maintenue par adjonction d'eau de la distribution. Après 9 jours, la plantule atteint environ 60 mm, hauteur à laquelle elle est généralement utilisée.

## VARIABILITÉ ET PRÉPARATION DU MATÉRIEL

Le matériel utilisé est soigneusement trié en deux étapes :

a) Les graines sont, tout d'abord, départagées par plusieurs tamisages. Pour chaque expérience, elles sont ensuite choisies, une à une, aussi semblables que possible. Dans

certains cas particuliers, elles sont même pesées, une à une, au demi-milligramme.

b) Les plantules germées se présentent, généralement, en semis très homogènes. Cependant, elles sont encore choisies avec soin suivant leur hauteur, la grandeur de leurs cotylédons et l'épaisseur de leur hypocotyle.

Dans la plupart des expériences, le matériel expérimental est composé par des hypocotyles. Chaque hypocotyle provenant d'une plantule choisie, est isolé de ses racines principales par une coupe transversale pratiquée à sa base. Dans certains cas, une coupe transversale pratiquée à son sommet, enlève aussi les cotylédons. Les hypocotyles isolés sont ensuite placés dans le milieu de culture :

1) ou bien, en tubes de culture; dans ce cas, la base de l'hypocotyle ou des fragments plonge de quelques millimètres dans l'eau ou le milieu nutritif;

2) ou bien en boîtes de petri; dans ce cas, le matériel est placé sur une épaisse couche de papier-filtre couvrant le fond de la boîte et fortement imbibé du milieu nutritif.

Tubes de culture et boîtes de petri sont placés dans une enceinte thermostatique, à 26°C, dans une atmosphère très humide (au moins 90 %) et à l'obscurité complète, sauf dans des cas assez rares où nous donnons, dans l'exposé, les conditions nouvelles.

Les observations sont effectuées à la lumière rouge.

Le milieu de culture est :

1) l'eau de la distribution,

2) un milieu nutritif composé par Mme BOUILLENNE-WALRAND et qui contient :

|                                |                    |
|--------------------------------|--------------------|
| Saccharose :                   | 15 grs /litre      |
| acide $\beta$ indol-acétique   | 10 $\gamma$ / »    |
| vitamine B <sub>1</sub>        | 1 mgr / »          |
| vitamine B <sub>6</sub>        | 0,1 mgr / »        |
| acide nicotinique              | 0,5 mgr / »        |
| acide ascorbique               | 1 mgr / »          |
| sulfate d'adénine              | 0,5 mgr / »        |
| panthoténate de Ca             | 0,25 mgr / »       |
| glycine                        | 1 mgr / »          |
| $\alpha$ alanine               | 1 mgr / »          |
| acide molybdique               | 10 $\gamma$ /litre |
| acide borique                  | 10 $\gamma$ / »    |
| CuSO <sub>4</sub>              | 100 $\gamma$ / »   |
| ZnSO <sub>4</sub>              | 0,1 mgr / »        |
| chlorure de manganèse          | 0,1 mgr / »        |
| chlorure de nickel             | 10 $\gamma$ / »    |
| chlorure de cobalt             | 10 $\gamma$ / »    |
| iodure potassique              | 0,1 mgr / »        |
| sulfate ferreux                | 1 mgr / »          |
| sulfate de titane              | 0,1 mgr / »        |
| sulfate de glucinium           | 0,1 mgr / »        |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 1 cc               |

Eau distillée.

Ce milieu a été déterminé, après de nombreux essais, comme étant le plus favorable à la culture du matériel et à la croissance des racines. Au cours de la culture, il est renouvelé généralement tous les deux jours.

#### INANITION DU MATÉRIEL

Dans l'étude de la rhizogenèse, un root-test a été mis au point par BOUILLENNE; c'est l'hypocotyle inanité de la Balsamine. Le processus d'inanition consiste à priver la plantule de ses cotylédons et à la maintenir, avec ses racines, pendant huit jours, à l'obscurité complète, dans un milieu pauvre, par exemple, dans de l'eau de la distribution. Les hypocotyles sont ensuite débarrassés de leurs racines et mis en culture suivant la technique habituelle.

## MÉTHODES D'EXAMEN DU MATÉRIEL

Les résultats expérimentaux sont basés sur le nombre des racines néoformées dans les hypocotyles cultivés.

La méthode de dénombrement la plus couramment employée consiste à faire un grand nombre d'observations macroscopiques, soit à l'œil nu, soit à la loupe, du matériel vivant. Cette méthode présente l'avantage d'être très simple, très rapide et de n'exiger qu'un nombre relativement peu important de sujets, puisque les mêmes individus sont observés, de moments en moments, sans être sacrifiés ou blessés. Par contre, elle ne renseigne pas sur les phénomènes qui se passent à l'intérieur des tissus, ce qui constitue un sérieux inconvénient, car les racines sont d'origine endogène. L'examen macroscopique risque donc, à un moment déterminé, de ne pas dénombrer la totalité des racines néoformées, en négligeant celles qui se trouvent encore à l'état de primordiums radiculaires, à l'intérieur des tissus.

Pour pallier cet inconvénient, nous avons mis au point une seconde méthode, appliquée surtout à l'examen des hypocotyles de jeunes plantules.

Elle consiste à examiner les sujets, après fixation de 48 heures au BOUIN-ALLEN, puis séjour plus ou moins prolongé dans l'alcool 60°. Le passage dans le fixateur et l'alcool a pour effet de rendre les tissus de l'hypocotyle transparents. De cette manière, on distingue très bien, soit à l'œil nu, soit à la loupe, à l'intérieur des tissus, les vaisseaux et les petits mammelons des racines naissantes s'échelonnant le long de l'hypocotyle.

Cette méthode est simple, rapide et elle repère déjà les racines à des stades très jeunes de primordiums, à l'inté-

rieur des tissus. Par contre, elle exige un grands nombre de sujets, ceux-ci devant être sacrifiés pour l'examen, à chaque étape des observations, et elle ne renseigne pas sur les stades tout à fait initiaux de l'organisation des primordiums.

Nous avons encore employé la méthode d'examen microscopique. Cette méthode a été appliquée, surtout, à l'examen des hypocotyles de plantes adultes et aux petits fragments d'hypocotyles de jeunes plantules (24 b). Elle consiste à pratiquer des coupes transversales, successives et sériées, dans le matériel vivant ou fixé, puis à examiner chaque coupe au microscope, après coloration à l'iode ioduré. L'iode ioduré a pour effet de colorer en rouge de façon sélective, les primordiums radiculaires même très petits. Cette méthode est extrêmement précise, car elle permet de repérer les racines dès leurs tout premiers stades de formation. Par contre, elle est très lente, délicate et exige la culture d'un grand nombre de sujets, ceux-ci devant être sacrifiés pour l'examen.

Au cours de ce travail, les trois méthodes ont été employées. Quand la méthode d'examen microscopique et la méthode par fixation et éclaircissement exigeaient la culture d'un nombre absolument trop considérable de sujets, nous avons employé la méthode d'examen macroscopique et nous avons corrigé ses résultats, en fin d'expérience, par l'examen microscopique du matériel employé. Partout ailleurs nous avons employé la méthode par fixation et éclaircissement.

## EXPERIENCES PRELIMINAIRES

### I. — ETUDE DES VARIATIONS INDIVIDUELLES

Le nombre des racines néoformées sur l'hypocotyle ou ses fragments, doit être examiné avec précision, en ce qui concerne l'ordre de grandeur des variations individuelles, par exemple, lorsque des séries composées de nombres semblables d'hypocotyles aussi semblables que possible, sont placés, soit simultanément, soit successivement, dans des conditions de culture strictement semblables.

Divers essais ont été réalisés dans ce sens :

#### a) *Essais simultanés.*

Quatre séries de 15 hypocotyles semblables sont placées, simultanément, dans des conditions identiques de culture (milieu nutritif, 26°C, 95 % d'humidité, obscurité complète).

On dénombre les racines néoformées dans chaque série, après le même temps. Les essais ont été répétés trois fois. (cfr tableau 1).

TABLEAU 1. — *Variations individuelles du nombre des racines néoformées, dans des séries simultanées*

|                       | Nombre des racines dénombrées dans les 4 séries de chaque essai |     |     |     | Différence maximum entre les séries (en %) |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|--------------------------------------------|
| 1 <sup>re</sup> essai | 210                                                             | 211 | 216 | 209 | 3,3 %                                      |
| 2 <sup>e</sup> essai  | 117                                                             | 118 | 118 | 120 | 2,5 %                                      |
| 3 <sup>e</sup> essai  | 173                                                             | 162 | 177 | 173 | 9,2 %                                      |

Les variations individuelles (différences maximales), ne dépassent pas 10 %; pour les trois essais, elles sont, en moyenne de 5 % seulement.

*b) Essais successifs*

Une série (a) de 15 hypocotyles est placée en culture, dans des conditions de culture bien déterminées (milieu nutritif, 26°C, 95 % d'humidité, obscurité complète). Quinze jours plus tard, une série (b) de 15 hypocotyles, semblables aux premiers, est placée en culture, dans les mêmes conditions. Après une culture d'une durée égale, on dénombre, dans chaque série, les racines néoformées. Six essais ont été ainsi réalisés. (cfr. tableau 2).

TABLEAU 2. — *Variations individuelles du nombre des racines néoformées, dans des séries successives*

|                 |       | Nombre total des racines<br>dénombrées dans les deux<br>séries successives (a-b) |     | Différence maxi-<br>mum entre les<br>séries (en %) |
|-----------------|-------|----------------------------------------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------|
|                 |       | a                                                                                | b   |                                                    |
| 1 <sup>re</sup> | Essai | 174                                                                              | 191 | 9,7 %                                              |
| 2 <sup>e</sup>  | Essai | 405                                                                              | 408 | 0,7 %                                              |
| 3 <sup>e</sup>  | Essai | 207                                                                              | 193 | 7,2 %                                              |
| 4 <sup>e</sup>  | Essai | 198                                                                              | 198 | 0,0 %                                              |
| 5 <sup>e</sup>  | Essai | 120                                                                              | 131 | 9,0 %                                              |
| 6 <sup>e</sup>  | Essai | 374                                                                              | 395 | 5,6 %                                              |

Les variations individuelles (différences maximales) sont, en moyenne, les mêmes dans les essais simultanés et les essais successifs. Les variations individuelles maximales ont été, partout, inférieures à 10 %.

II. — ETUDE COMPARATIVE DU NOMBRE DES RACINES  
OBSERVÉES SUR LES HYPOCOTYLES VIVANTS ET SUR  
LES HYPOCOTYLES FIXÉS ET ÉCLAIRCIS

1<sup>re</sup> Expérience : Matériel non inanitié

Néoformation des racines sur des hypocotyles de 55 mm, cultivés  
à l'obscurité complète, à 26° C, en milieu nutritif.

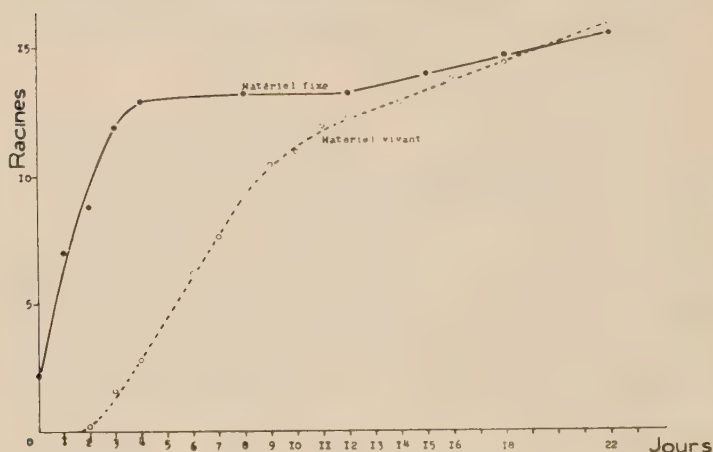
Néoformation des racines sur des hypocotyles de 55 mm,  
cultivés à l'obscurité complète, à 26°C, en milieu nutritif.

Le tableau (3) et les courbes du diagramme (1), donnent  
le nombre des racines observées au cours de l'expérience,

TABLEAU 3. — *Nombre de racines néoformées, observées, par  
hypocotyle, au cours de la culture*

| Jours | Nombre de racines par hypocotyle (moyenne sur 15) |                      |
|-------|---------------------------------------------------|----------------------|
|       | Sur le matériel vivant                            | Sur le matériel fixé |
| 0     | 0,0                                               | 2,2                  |
| 1     | 0,0                                               | 7,0                  |
| 2     | 0,2                                               | 8,8                  |
| 3     | 1,6                                               | 11,9                 |
| 4     | 2,8                                               | 12,9                 |
| 6     | 6,2                                               | —                    |
| 7     | 7,6                                               | —                    |
| 8     | 9,2                                               | 13,2                 |
| 9     | 10,4                                              | —                    |
| 10    | 10,9                                              | —                    |
| 11    | 11,9                                              | —                    |
| 12    | 12,2                                              | —                    |
| 14    | 12,8                                              | —                    |
| 15    | —                                                 | 13,9                 |
| 16    | 13,7                                              | —                    |
| 18    | 14,3                                              | 14,6                 |
| 22    | 15,8                                              | 15,4                 |

DIAGRAMME 1. — Néoformation radiculaire sur hypocotyles non inanitiés. Observations sur matériel vivant et sur matériel fixé.



a) par examen journalier de 15 hypocotyles laissés en culture pendant toute la durée de l'expérience;

b) par examen de 15 hypocotyles prélevés et fixés chaque jour.

Les deux courbes diffèrent dans leur première moitié, jusqu'au 12<sup>me</sup> jour. Le nombre des racines dénombrées sur le matériel fixé est très supérieur au nombre des racines visibles sur le matériel vivant. Cette différence, très forte pendant les premiers jours devient négligeable au 12<sup>me</sup> jour (moins de 8 %, c'est-à-dire, à la limite des variations individuelles).

En fin de culture, à partir du 12<sup>me</sup> jour, nous comptons le même nombre de racines par les deux méthodes d'observation. Toutes les racines formées sont donc, à ce moment, devenues visibles. Les primordiums décelés, au début, par la méthode de fixation, ont eu le temps de grandir suffisamment.

## II<sup>e</sup> Expérience : Matériel inanitié

Néoformation des racines sur des hypocotyles de 55 mm, inanitiés, cultivés à l'obscurité complète, à 26° C, en milieu nutritif.

Le tableau (4) et les courbes du diagramme (2) donnent le nombre des racines observées, au cours de l'expérience :

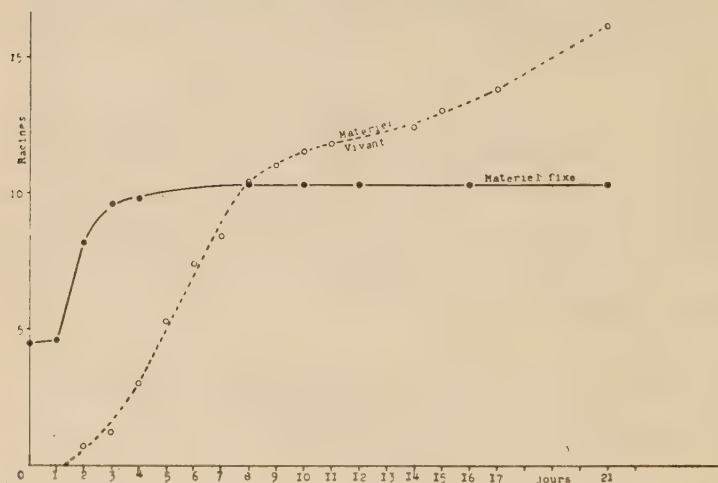
a) par examen journalier de 15 hypocotyles laissés en culture pendant toute la durée de l'expérience;

b) par examen de 15 hypocotyles prélevés et fixés chaque jour.

TABLEAU 4. — *Nombre des racines néoformées, observées, par hypocotyle inanitié, au cours de la culture*

| Jours | Nombre de racines par hypocotyle (moyenne sur 15) |                      |
|-------|---------------------------------------------------|----------------------|
|       | Sur la matériel vivant                            | Sur le matériel fixé |
| 0     | 0,0                                               | 4,5                  |
| 1     | 0,0                                               | 4,6                  |
| 2     | 0,7                                               | 8,2                  |
| 3     | 1,2                                               | 9,6                  |
| 4     | 3,0                                               | 9,8                  |
| 5     | 5,3                                               | —                    |
| 6     | 7,4                                               | —                    |
| 7     | 8,4                                               | —                    |
| 8     | 10,4                                              | 10,3                 |
| 9     | 11,0                                              | —                    |
| 10    | 11,5                                              | 10,3                 |
| 11    | 11,8                                              | —                    |
| 12    | —                                                 | 10,3                 |
| 14    | 12,4                                              | —                    |
| 15    | 13,0                                              | —                    |
| 16    | —                                                 | 10,3                 |
| 17    | 13,8                                              | —                    |
| 18    | —                                                 | —                    |
| 21    | 16,1                                              | 10,3                 |

DIAGRAMME 2. — Néoformation radiculaire sur hypocotyles inanitiés.  
Observations sur matériel vivant et sur matériel fixé.



A la fin des huit jours d'inanition, au départ de cette expérience, l'hypocotyle fixé révèle, à sa base, 4 à 5 primordiums radiculaires qui ne sont pas visibles sur l'hypocotyle vivant. La formation de ces primordiums a, vraisemblablement, été déclenchée, par l'amputation des cotylédons, déterminant l'inanition.

Pendant les premières 24 heures de culture, aucun changement dans la néoformation n'est repérable, ni sur le matériel fixé, si sur le matériel vivant; mais, au 2<sup>me</sup> jour, une néoformation intense apparaît sur le matériel fixé. Les racines commencent à peine à apparaître sur le matériel vivant.

Au 3<sup>me</sup> jour, le matériel fixé montre que la néoformation est presque terminée; chaque hypocotyle révèle, à ce moment, environ 10 racines (dont 5 à 6 seulement ont été néoformées depuis la mise en culture de l'hypocotyle).

Par contre, le matériel vivant n'a qu'une seule racine par hypocotyle.

A partir du 3<sup>me</sup> jour, quotidiennement, deux racines nouvelles, environ, apparaissent sur les hypocotyles vivants.

Au 8<sup>me</sup> jour, on trouve le même nombre de racines sur les hypocotyles vivants que sur les hypocotyles fixés.

Au delà du 8<sup>me</sup> jour, les hypocotyles vivants continuent à présenter de nouvelles racines (16,1 au 21<sup>me</sup> jour) tandis que les hypocotyles fixés ne manifestent plus d'activité rhizogénique nouvelle (10,3 racines au 21<sup>me</sup> jour).

Ce résultat est, à tout le moins, remarquable. En effet, il ne concorde pas avec ce que nous avons expérimenté sur hypocotyles non inanitiés où, en fin d'expérience, nous avons observé que toutes les racines visibles en profondeur, sur le matériel fixé, avaient eu le temps de pousser et d'apparaître sur le vivant.

Il est vrai que, dans l'étude sur matériel inanitié, nous en sommes arrivé, au 8<sup>me</sup> jour, à une même conclusion. Il y a un nombre identique de racines sur le matériel vivant et sur le matériel fixé; toutes celles qui ont été décelées en profondeur ont eu le temps de se montrer sur le vivant.

Mais, après le 8<sup>me</sup> jour, nous n'observons plus de racines nouvelles par la méthode des hypocotyles fixés et il s'en produit dans le matériel vivant, toutes les conditions de la culture étant semblables. On pourrait peut-être évoquer le fait que le matériel vivant a été observé pendant toute la durée de l'expérience et a été journellement retiré de ses tubes de culture et examiné à la lumière rouge.

WENT, dans un important travail, a mis en évidence l'influence que pouvait avoir l'exposition du matériel

végétal à la lumière rouge, sur son comportement physiologique.

On pourrait évoquer l'influence des nombreuses manipulations, comme aussi celle de la lumière rouge, pour expliquer que les hypocotyles de Balsamines ainsi traités réagissent par un supplément de racines, par rapport aux hypocotyles fixés, qui n'ont été manipulés qu'une fois, le jour où on les a plongé dans le bain de fixation.

On peut voir, par ces résultats, que l'examen, en vue de la numération de racines sur matériel vivant, par la méthode macroscopique simple, ne suffit pas. Il doit se compléter, soit de l'examen macroscopique précis du matériel fixé, dont les tissus ont été rendus transparents, soit de l'examen microscopique de coupes sériées pratiquées dans le matériel.

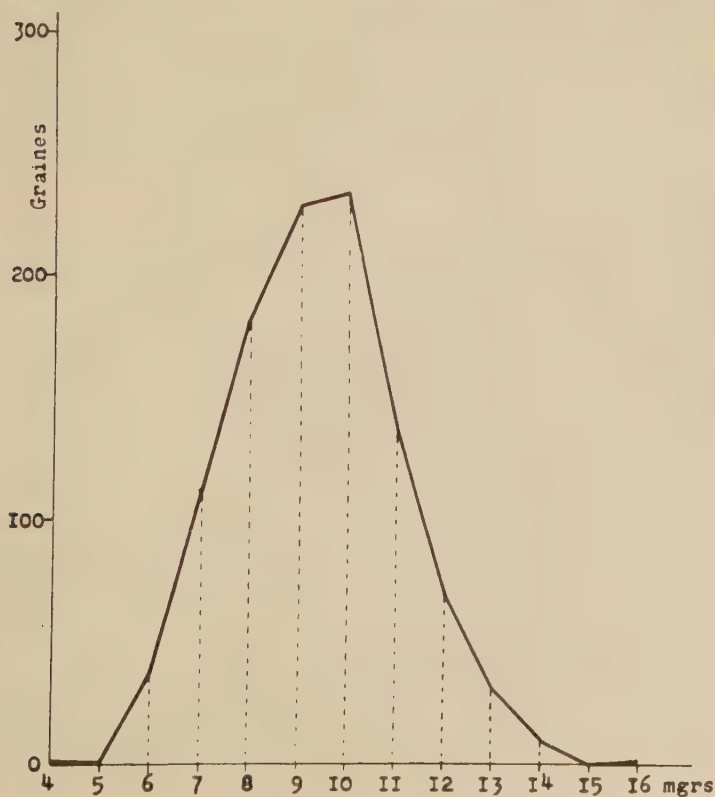
---

## CHAPITRE I

### ETUDE APPROFONDIE DE LA GERMINATION ET DE LA CROISSANCE, DANS LES PLANTULES DE *IMPATIENS BALSAMINA* L

Les problèmes de la rhizogenèse, qui se mesurent, dans nos essais, par le comptage de racines, nous apportent, dans l'expression des résultats, des difficultés sensibles, du fait de la variabilité des chiffres.

FIGURE 3. — Répartition des graines sèches, d'après leur poids.



Nous devons, tout d'abord, nous rendre compte de l'apport individuel, dans les variations constatées; c'est pourquoi, nous nous sommes astreint à préciser les causes de cette variation.

# I. — VARIATIONS DU POIDS DES GRAINES

Nous avons, tout d'abord, recherché le poids moyen des graines sèches, telles qu'elles nous ont été fournies.

1338 graines sont prises, au hasard, et pesées une à une. Elles sont réparties en lots, selon leurs poids, de milligramme en milligramme : lots de graines ayant de 6 à 7 mgrs, de 7 à 8 mgrs, etc...

Les graines sont dénombrées dans chaque lot, ce qui donne :

| 1 graine de | 4 à  | 5 mgrs |
|-------------|------|--------|
| 0 »         | 5 à  | 6 »    |
| 36 »        | 6 à  | 7 »    |
| 112 »       | 7 à  | 8 »    |
| 182 »       | 8 à  | 9 »    |
| 229 »       | 9 à  | 10 »   |
| 234 »       | 10 à | 11 »   |
| 137 »       | 11 à | 12 »   |
| 70 »        | 12 à | 13 »   |
| 29 »        | 13 à | 14 »   |
| 9 »         | 14 à | 15 »   |
| 0 »         | 15 à | 16 »   |
| 1 »         | 16 à | 17 »   |

Ces nombres forment une courbe de fréquence caractéristique (courbe 3), dont le sommet se trouve entre 9 et 11 milligrammes.

En imbibant les graines sous une faible épaisseur d'eau, celles-ci grossissent et augmentent de poids. Nous avons tenu à étudier cette prise d'eau.

Toutes les heures, les graines sont pesées, après avoir été déposées sur du papier-filtre (voir : tableau 5).

Si l'on considère l'augmentation du poids des graines de 6 mgrs, 7 mgrs..., on constate que la prise d'eau est, sans exception, d'autant plus considérable que la graine est plus lourde; mais, proportionnellement à leur poids, les petites graines absorbent plus d'eau que les grosses.

Le rythme de la prise d'eau est assez semblable dans les graines de différents poids. Sa vitesse est maximum pendant la première heure, (12 % du phénomène total); elle diminue ensuite légèrement et reste relativement constante pendant les 2<sup>me</sup>, 3<sup>me</sup> et 4<sup>me</sup> heures; à ce moment, 43 % de la prise d'eau totale sont réalisés; ensuite, elle

TABLEAU 5. — *Evolution du poids total des graines (en mgrs), au cours de la prise d'eau*

|                        | 10 Graines de |       |       |       |        |        |        |
|------------------------|---------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
|                        | 6 mgr         | 7 mgr | 8 mgr | 9 mgr | 10 mgr | 11 mgr | 12 mgr |
| Au départ              | 63,2          | 69,0  | 80,0  | 90,1  | 100,3  | 111,1  | 122,3  |
| 1 <sup>re</sup> heure  | 66,3          | 73,9  | 84,4  | 96,0  | 105,9  | 118,8  | 133,3  |
| 2 <sup>me</sup> heure  | 71,3          | 79,4  | 89,0  | 101,9 | 111,8  | 120,6  | 138,9  |
| 3 <sup>me</sup> heure  | 74,7          | 84,0  | 93,3  | 107,0 | 117,5  | 128,1  | 144,4  |
| 4 <sup>me</sup> heure  | 78,1          | 88,2  | 97,6  | 111,5 | 122,9  | 137,3  | 152,0  |
| 5 <sup>me</sup> heure  | 81,5          | 92,1  | 101,3 | 116,0 | 128,2  | 141,8  | 156,2  |
| 6 <sup>me</sup> heure  | 84,2          | 94,9  | 104,3 | 119,3 | 132,1  | 146,2  | 160,7  |
| 7 <sup>me</sup> heure  | 87,1          | 97,2  | 107,1 | 122,8 | 135,5  | 149,2  | 164,6  |
| 8 <sup>me</sup> heure  | 88,9          | 99,0  | 109,8 | 125,4 | 138,0  | 151,0  | 167,5  |
| 9 <sup>me</sup> heure  | 90,0          | 100,4 | 111,2 | 127,0 | 140,4  | 153,2  | 169,5  |
| 13 <sup>me</sup> heure | 94,3          | 105,0 | 116,0 | 133,6 | 148,7  | 161,3  | 177,1  |
| 24 <sup>me</sup> heure | 98,6          | 110,7 | 124,6 | 139,8 | 154,4  | 167,4  | 182,7  |
| 25 <sup>me</sup> heure | 98,6          | 111,1 | 124,6 | 139,8 | 154,4  | 166,7  | 103,2  |
| Augmentation totale    | 35,4          | 43,2  | 45,7  | 51,4  | 55,9   | 57,3   | 61,3   |

*Pourcentage de l'eau absorbée par rapport au poids de la graine*

| Graines de | Avant l'absorption | Après l'absorption |
|------------|--------------------|--------------------|
| 6 mgrs     | 61,0               | 38,2               |
| 7 mgrs     | 68,0               | 41,2               |
| 8 mgrs     | 62,0               | 38,3               |
| 9 mgrs     | 61,0               | 38,2               |
| 10 mgrs    | 60,0               | 37,5               |
| 11 mgrs    | 56,0               | 35,6               |
| 12 mgrs    | 53,0               | 34,8               |

diminue à nouveau progressivement : après 8 heures, 70 %, après 12 heures 83 % de la prise d'eau totale sont réalisés; enfin, la prise d'eau devient presque nulle aux environs de la quinzième heure.

II. — INFLUENCE DE LA HAUTEUR D'EAU ET DE LA DURÉE  
DE TREMPAGE SUR LE COMPORTEMENT DES GRAINES

Des graines de même poids, aussi semblables que possible, sont placées, *séparément*, dans des séries de tubes en verre de diamètres différents, et recouvertes d'eau de la distribution. Le volume d'eau étant identique pour tous les tubes, la hauteur du liquide immergeant les graines varie, dans chaque série de tubes, selon leur diamètre.

Au départ de l'expérience, on a respectivement , à la lumière du jour et à 20°C environ :

|                                                       |        |
|-------------------------------------------------------|--------|
| 20 graines immergées sous une hauteur d'eau de 95 mm, |        |
| » » » »                                               | 30 mm, |
| » » » »                                               | 18 mm, |
| » » » »                                               | 12 mm, |
| » » » »                                               | 5 mm,  |
| » » » »                                               | 1 mm,  |

20 graines se trouvant comme celles de la série précédente (1 mm) mais, en tubes fermés, sous azote. Les tubes des six autres séries sont ouverts à l'air ambiant.

Cinq graines de chaque série sont prélevées, respectivement, après 1 jour, 2 jours, 3 jours et 16 jours de trempage, puis mises en germination dans les conditions habituelles.

A. — *Graines immergées pendant 1 jour, sous les différentes hauteurs d'eau*

Le tableau (6) résume les observations réalisées sur les graines et plantules après 1 et 2 jours de mise en germination.

Après un jour de mise en germination, les graines immergées sous une faible épaisseur d'eau montrent une avance nette sur les autres et, en particulier, sur celles qui sont immergées sous 95 mm d'eau et sous azote.

TABLEAU 6. — *Comportement des graines immergées pendant un jour puis mises en germination*

| A. Après un jour       |                  |                               |                             |                   |
|------------------------|------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| Conditions de trempage | Nombre degraines | Graines en pleine germination | Graines commençant à germer | Graines non germ. |
| Sous azote             | 5                | 0                             | 1                           | 4                 |
| Sous 95 mm d'eau       | 5                | 0                             | 2                           | 3                 |
| » 30 mm »              | 5                | 0                             | 5                           | 0                 |
| » 18 mm »              | 5                | 1                             | 2                           | 2                 |
| » 12 mm »              | 5                | 2                             | 2                           | 1                 |
| » 5 mm »               | 5                | 5                             | 0                           | 0                 |
| » 1 mm »               | 5                | 3                             | 2                           | 0                 |

B. Après deux jours

|                  |   | Long. des 5<br>hypo. | Long. des 5<br>Rac.Primor | Nombre<br>des<br>Rac. suppl. | Longueur<br>totale<br>Hypo + Rac |
|------------------|---|----------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| Sous azote       | 5 | 9,0                  | 8,0                       | 0                            | 17,0                             |
| Sous 95 mm d'eau | 5 | 10,0                 | 9,0                       | 0                            | 19,0                             |
| » 30 mm »        | 5 | 10,5                 | 15,5                      | 0                            | 26,0                             |
| » 28 mm »        | 5 | 11,0                 | 14,0                      | 0                            | 25,0                             |
| » 12 mm »        | 5 | 10,5                 | 18,0                      | 1                            | 28,5                             |
| » 5 mm »         | 5 | 11,0                 | 19,5                      | 1                            | 29,5                             |
| » 1 mm »         | 5 | 10,5                 | 22,0                      | 3                            | 32,5                             |

Après deux jours, toutes les graines ont germé. Chaque plantule développe un hypocotyle et une racine primordiale (parfois 2). Les plantules des deux premières séries retardent. Les conditions de trempage qui semblent ne pas influencer beaucoup la croissance de l'hypocotyle a, par contre, une action beaucoup plus nette sur celles des racines primordiales.

Après trois jours, les différences entre les séries s'ameunissent : tous les hypocotyles ont de 7 à 8 mm de long.

Après 6 jours, la longueur totale des 5 hypocotyles, par série, est respectivement de : 142, 157, 159, 156, 171, 167 et 174 mm. Les différences entre séries restent négligeables. Tout au plus, les plantules provenant des graines sous azote montrent-elles encore une croissance un peu ralentie.

B. — Graines immergées, pendant 2 jours, sous différentes hauteurs d'eau

Le tableau (7) résume les observations réalisées sur les graines et plantules, respectivement après : 1, 2, 4 et 5 jours de culture (voir page 29).

TABLEAU 7. — *Comportement des graines immergées pendant deux jours, puis mises en germination*

| A. Après un jour       |                                   |                            |                                   |                          |
|------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Conditions de trempage | Nombre de graines                 | Gr. en pleine germination  | Gr. commençant à germer           | Gr. non germées          |
| Sous azote             | 5                                 | 0                          | 4                                 | 1                        |
| Sous 95 mm d'eau       | 5                                 | 1                          | 1                                 | 3                        |
| » 30 mm »              | 5                                 | 1                          | 2                                 | 2                        |
| » 18 mm »              | 5                                 | 2                          | 3                                 | 0                        |
| » 12 mm »              | 5                                 | 2                          | 2                                 | 1                        |
| » 5 mm »               | 5                                 | 5                          | 0                                 | 0                        |
| » 1 mm »               | 5                                 | 4                          | 1                                 | 0                        |
| B. Après deux jours    |                                   |                            |                                   |                          |
| Conditions de trempage | Long des 5 hypoc.                 | Long. totale des Rac. prim | Nombre des Rac. adventives        | Long. totale Hypo + Raci |
| Sous azote             | 8,0 mm                            | 11,0 mm                    | 0                                 | 19,0 mm                  |
| Sous 95 mm d'eau       | 9,0                               | 11,5                       | 1                                 | 20,5                     |
| » 30 mm »              | 8,5                               | 10,5                       | 0                                 | 19,0                     |
| » 18 mm »              | 9,5                               | 30,5                       | 2                                 | 40,0                     |
| » 12 mm »              | 8,0                               | 20,5                       | 1                                 | 28,0                     |
| » 5 mm »               | 23,0                              | 57,0                       | 5                                 | 80,0                     |
| » 1 mm »               | 15,5                              | 43,0                       | 4                                 | 58,5                     |
| C. Après 4 jours       |                                   | D. Après 5 jours           |                                   |                          |
| Conditions de trempage | Longueur totale des 5 hypocotyles |                            | Longueur totale des 5 hypocotyles |                          |
| Sous Azote             | 69 mm                             |                            | 130 mm                            |                          |
| Sous 95 mm d'eau       | 82                                |                            | 145                               |                          |
| » 30 mm »              | 66                                |                            | 138                               |                          |
| » 18 mm »              | 98                                |                            | 163                               |                          |
| » 12 mm »              | 104                               |                            | 164                               |                          |
| » 5 mm »               | 105                               |                            | 179                               |                          |
| » 1 mm »               | 107                               |                            | 186                               |                          |

La germination est d'autant plus rapide que les graines ont trempé sous une faible épaisseur d'eau et la vitesse de croissance de l'hypocotyle et des racines principales est nettement influencée par ces conditions de trempage.

Après 5 jours de culture, les séries sous azote et sous 95 et 30 mm d'eau se comportent de manière analogue et une différence s'affirme entre celles-ci et les autres.

C. — *Graines immergées, pendant 3 jours, sous différentes hauteurs d'eau*

Les graines ayant séjourné sous une faible épaisseur d'eau (5 et 1 mm) ont déjà commencé à germer, montrant hypocotyle et racines principales. Il n'y a aucune graine germée dans les autres séries. Le tableau (8) résume les observations réalisées sur les graines et plantules, respectivement après 1, 3 et 4 jours de culture.

Après 1 jour, les plantules sous 5 mm d'eau, sont, de

TABLEAU 8. — *Comportement des graines immergées pendant trois jours, puis mises en germination*

| A. Après un jour       |                   |                           |                         |                 |
|------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------------|-----------------|
| Conditions de trempage | Nombre de graines | Gr. en pleine germination | Gr. commençant à germer | Gr. non germées |
| Sous azote             | 5                 | 1                         | 3                       | 1               |
| Sous 95 mm d'eau       | 5                 | 0                         | 0                       | 5               |
| » 30 mm »              | 5                 | 0                         | 1                       | 4               |
| » 18 mm »              | 5                 | 2                         | 0                       | 3               |
| » 12 mm »              | 5                 | 1                         | 1                       | 3               |
| » 5 mm »               | 5                 | 5                         | 0                       | 0               |
| » 1 mm »               | 5                 | 5                         | 0                       | 0               |

*Etat des plantules en germination*

|                 | Longueur des hypocotyles | Longueur des Rac. Princ. | Nombre des Rac. adven. |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| Sous 5 mm d'eau | 14,0                     | 37,0                     | 5                      |
| Sous 1 mm d'eau | 8,0                      | 7,5                      | 0                      |

C. Après 3 jours

D. Après 4 jours

| Conditions de trempage | Longueur des 5 hypo. de chaque série | Longueur des 5 hypo. de chaque série |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Sous azote             | 34                                   | 74                                   |
| Sous 95 mm d'eau       | 28                                   | 79                                   |
| » 30 mm »              | 30                                   | 84                                   |
| » 18 mm »              | 33                                   | 72                                   |
| » 12 mm »              | 34                                   | 72                                   |
| » 5 mm »               | 133                                  | 213                                  |
| » 1 mm »               | 67                                   | 123                                  |

loin, les plus avancées, particulièrement en ce qui concerne les racines.

Après 4 jours, il y a une nette différence entre le groupe des 5 premières séries et les deux dernières. Dans le premier groupe, tous les hypocotyles ont atteint pratiquement la même longueur. La différence entre les groupes se conservera encore dans les jours suivants, puis elle disparaîtra peu à peu.

D. — *Graines immergées pendant 16 jours, sous différentes hauteurs d'eau*

Seules, les graines ayant trempé sous une mince couche d'eau (5 et 1 mm) ont germé pendant le trempage. Nous

ne les avons pas mises à germer, mais nous les avons examinées avec soin, à la sortie; les renseignements qu'elles nous ont donnés ont été intéressants.

*Plantules ayant germé sous 5 mm d'eau pendant le trempage* = (voir figure 4).

Les plantules (1) et (2) n'ont formé aucune racine primordiale mais respectivement 10 et 11 racines adventives sur leurs hypocotyles.

La plantule (3) a formé une racine primordiale de 2 mm et 13 racines adventives sur l'hypocotyle (14 mm).

La plantule (4) a formé une racine primordiale de 6 mm. Sur cette racine sont apparues 4 racines secondaires; sur l'hypocotyle (17 mm de long), on compte 13 racines adventives.

La plantule (5), qui a un hypocotyle de 18 mm, a formé une très grosse racine primordiale, de 25 mm de long, ayant elle-même une racine secondaire très épaisse. Sur l'hypocotyle, on compte 7 racines adventives renflées en massue.

Dans les plantules 3, 4 et 5, qui ont formé une racine principale, les 4 racines primordiales habituelles apparaissent également mais présentent un aspect pathologique.

*Plantules ayant germé sous 1 mm d'eau, pendant le trempage* (figure 5).

Les plantules sont composées d'un hypocotyle (en moyenne 30 mm de long) et des 5 racines primordiales, fortement renflées et couvertes de très petites racines renflées elles-mêmes en massue (en moyenne 44). Chose curieuse, ces racines latérales sont particulièrement nom-

breuses aux environs du méristème racinaire, où elles sont si rapprochées qu'elles se touchent.

Enfin, des racines adventives, renflées en massue, se forment aussi à la base de chaque hypocotyle.

FIGURE 4. — Plantules ayant germé sous 5 mm d'eau pendant 16 jours de trempage.

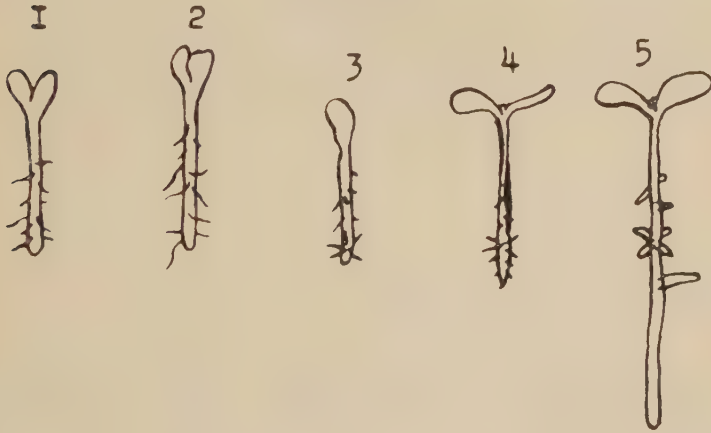
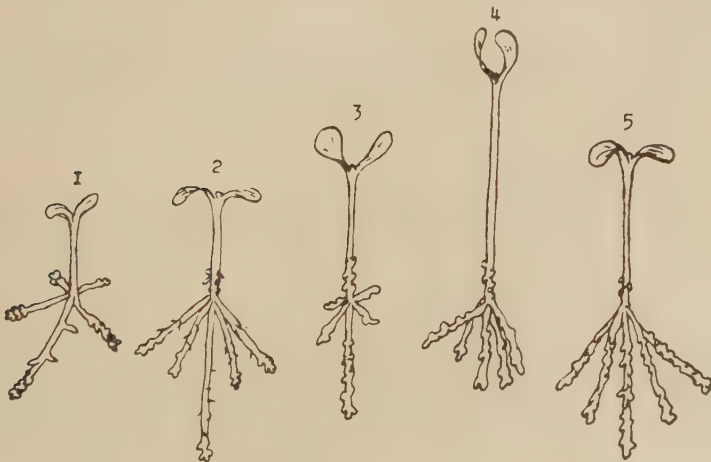


FIGURE 5. — Plantules ayant germé sous 1 mm d'eau pendant 16 jours de trempage



Le tableau (9) complète et précise cette description.

TABLEAU 9. — *Plantules ayant germé sous 1 mm d'eau, pendant un trempage de 16 jours*

| Plantules        | Longueur hypocotyle | Nombre de racines adventives sur l'hypocotyle | Longueur racine principale | Nombre racines second. |
|------------------|---------------------|-----------------------------------------------|----------------------------|------------------------|
| 1                | 18                  | 0                                             | 27                         | 42                     |
| 2                | 23                  | 7                                             | 36                         | 53                     |
| 3                | 30                  | 7                                             | 25                         | 26                     |
| 4                | 50                  | 7                                             | 20                         | 39                     |
| 5                | 32                  | 7                                             | 33                         | 61                     |
| Total            | 153                 | 26                                            | 141                        | 221                    |
| Moyenne par hyp. | 30                  | 5                                             | 28                         | 44                     |

Le trempage pendant 16 jours oblige les graines à germer dans des conditions fort particulières et les plantules présentent un aspect fort étonnant si on les compare à celles de même âge, qui ont germé dans des conditions normales.

Elles sont très courtes; les racines principales sont avortées ou inhibées, déclenchant par corrélation une apparition de racines adventives sur l'hypocotyle, dans le cas de 5 mm d'eau.

Sous 1 mm d'eau, les racines primordiales se sont développées mais elles sont couvertes de racines latérales courtes et renflées.

Un tel aspect rappelle ce que DELARGE a observé dans la culture de racines in vitro (Maïs et *Triticum*), soumises à l'action de fortes concentrations d'hétéroauxine dans le milieu de culture.

Les conditions de trempage ont empêché les graines de germer sous une forte épaisseur d'eau, indiquant l'action inhibitrice d'une anaérobiose. Sous une faible épaisseur d'eau, l'anaérobiose est presque nulle et la germination parvient à se réaliser; l'aspect des plantules évoque une sorte de réaction, pareille à celle que l'on obtient par une forte concentration d'hétéroauxine.

Peut-être, pourrions-nous suggérer que ces conditions provoquent la formation de grandes quantités d'auxine, à partir des réserves cotylédonnaires.

### *Conclusion*

Les essais réalisés sur la hauteur d'eau de trempage et la durée de trempage nous ont orienté sur la meilleure technique à utiliser pour obtenir, en grandes séries, les plantules nécessaires à nos expériences sur la rhizogenèse.

Ces résultats démontrent qu'il faut éviter l'anaérobiose, placer les graines en milieu humide, permettant une aération maximum et, en somme, établissent que la technique de mise en germination des graines utilisée à Liège est excellente et, dans ces conditions, nous avons continué à l'employer.

### III. — INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE AU COURS DE LA GERMINATION

La température du milieu dans lequel les graines sont mises à germer a été étudiée afin de connaître l'optimum dans la vitesse de la germination et dans la croissance vigoureuse des hypocotyles.

Des essais ont été réalisés à 15°, 23°, 26° et 30° C.

A 15° C, la germination est extrêmement lente; huit jours après le semis, l'embryon se dégage seulement des téguments de la graine et aucune croissance n'est visible.

A 23° C, après huit jours, les hypocotyles montrent un hypocotyle dressé, d'environ 4 cms.

A 26° C, après le même temps, les hypocotyles ont presque atteint 6 cms.

La température de 30°C est défavorable, en ce qu'elle provoque une croissance tellement rapide que les hypocotyles sont minces et flexibles et ne constituent plus le matériel idéal que nous avons trouvé dans l'hypocotyle de *Impatiens Balsamina*, mis à germer à 26°C, suivant la tradition.

#### IV. — ETUDE DE LA CROISSANCE DE L'HYPOCOTYLE

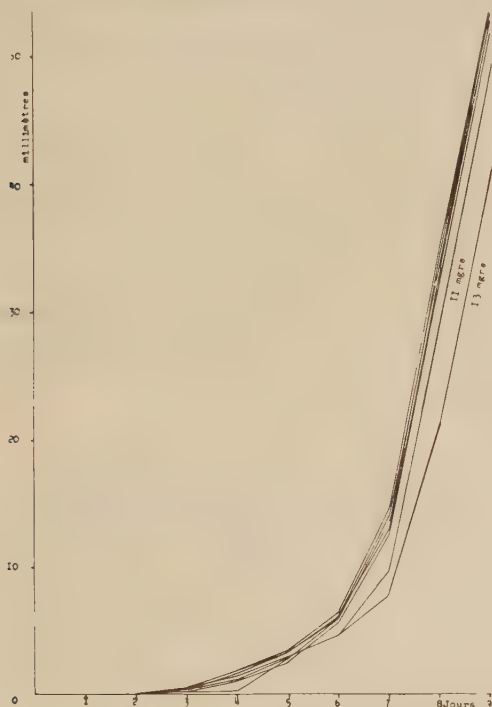
Nous avons utilisé la méthode traditionnelle de mise en germination, dont l'excellence a été confirmée par notre étude précédente. Les graines sont trempées, une vingtaine d'heures, dans l'eau de la distribution; elles sont placées sur papier-filtre humide, dans une étuve à 26°C, à l'obscurité complète et dans une atmosphère saturée d'humidité.

Des lots de 50 graines, ayant respectivement 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 mgrs sont constitués.

Chaque jour, la longueur de l'hypocotyle et le nombre des racines primordiales et adventives sont notés. (voir page 38 diagramme 6).

Les racines apparaissent seulement lorsque l'hypocotyle a environ 2 millimètres de long.

DIAGRAMME 6. — Croissance des hypocotyles provenant de graines sèches, ayant respectivement de 6 à 13 mgrs



Les hypocotyles issus de grosses graines ont commencé leur croissance plus rapidement que ceux des petites graines, par contre, leurs racines apparaissent avec un certain retard, qu'elles rattrappent d'ailleurs dans la suite.

Après 9 jours, les jeunes plantules ont atteint 5 à 6 cms de haut. Pendant ces 9 jours, le rythme de la croissance des jeunes plantules s'est révélé identique dans toutes les séries et, par conséquent, indépendant du poids initial des graines. Seules, les séries de graines de 11 et 13 milligrammes ont subi un certain retard coïncidant avec un

retard dans l'apparition des racines primordiales, mais toutes les autres séries ont suivi une évolution identique et c'est pourquoi, au 9<sup>me</sup> jour, compte tenu des variations individuelles, tous les hypocotyles ont des longueurs moyennes comparables.

Etant donné que c'est l'hypocotyle, en tant que tel, isolé des cotylédons et des racines primordiales, qui va être notre matériel d'expérimentation sur la rhizogenèse, nous avons isolé ces hypocotyles par deux coupes transversales, l'une, au niveau du point d'insertion des cotylédons, l'autre, au-dessus des racines principales et nous les avons pesés (voir tableau 10).

TABLEAU 10. — *Poids frais et Longueur des hypocotyles provenant de graines de poids initiaux différents*

| Poids initial<br>des graines | Poids frais total<br>de 25 hypocotyles<br>en mgr | Longueur totale<br>de<br>25 hypocotyles<br>en mm | Poids frais par<br>mm d'hypo. |
|------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------|
| 6 mgrs                       | 1516                                             | 1389                                             | 1,09                          |
| 7 mgrs                       | 1474                                             | 1312                                             | 1,12                          |
| 8 mgrs                       | 1556                                             | 1311                                             | 1,18                          |
| 9 mgrs                       | 1830                                             | 1464                                             | 1,25                          |
| 10 mgrs                      | 1880                                             | 1421                                             | 1,32                          |
| 11 mgrs                      | 1574                                             | 1117                                             | 1,41                          |
| 12 mgrs                      | 1878                                             | 1292                                             | 1,45                          |
| 13 mgrs                      | 1569                                             | 1034                                             | 1,51                          |

Le poids moyen des hypocotyles est d'autant plus grand qu'il provient de graines plus grosses, au départ.

Quatre jours après avoir effectué ces pesées, toutes les racines (primordiales et adventives), qui étaient restées à la base de l'hypocotyle, au moment où l'hypocotyle fut isolé, ont été comptées et mesurées. (voir tableau 11).

**TABEAU 11.** — *Nombre et longueur totale des racines primordiales des plantules provenant de graines de poids initiaux différents.*

| Poids initial des<br>graines | Nombre des racines<br>par plantule<br>(moyenne sur 50) | Longueur totale des<br>racines par plantule<br>(moyenne sur 50) |
|------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| 6 mgrs                       | 4,78                                                   | 97,26                                                           |
| 7 mgrs                       | 5,83                                                   | 111,21                                                          |
| 8 mgrs                       | 6,16                                                   | 117,03                                                          |
| 9 mgrs                       | 6,22                                                   | 144,10                                                          |
| 10 mgrs                      | 6,84                                                   | 149,84                                                          |
| 11 mgrs                      | 7,42                                                   | 159,20                                                          |
| 12 mgrs                      | 7,74                                                   | 169,09                                                          |
| 13 mgrs                      | 8,12                                                   | 136,68                                                          |

Il y a une progression constante dans le nombre et la longueur des racines, lorsque l'on passe des séries de graines les plus légères aux plus lourdes.

A l'exception de la série des graines de 6 milligrammes, où, dans 11 cas sur 50, nous avons compté moins de 5 racines, les plantules des autres séries ont toutes leurs 5 racines primordiales bien constituées et, en plus, un certain nombre de racines adventives.

Après avoir montré que le poids initial des graines n'influait pas leurs premières étapes de croissance, nous avons réalisé et suivi, de façon précise, la germination de plusieurs centaines de graines.

Les observations ont été réalisées pendant 7 jours et 7 nuits consécutives. Deux essais ont été réalisés.

### *1er Essai*

Vingt plantules, dont l'hypocotyle a environ 25 mm de haut reçoivent 5 traits horizontaux équidistants de

5 mm, dessinés à l'encre de Chine et numérotés de 1 à 5, du sommet à la base de l'hypocotyle (le trait supérieur se trouve au niveau d'insertion des cotylédons).

Lorsque l'hypocotyle atteint une longueur de 7 à 8 cms, (moyenne 75,8 mm), les segments sont mesurés à nouveau (cfr tableau 12).

TABLEAU 12. — *Croissance de l'hypocotyle*

| Segments | Longueur des segments dans un hypocotyle de : |         | Croissance en mm | Croissance, en % de la cr. totale |
|----------|-----------------------------------------------|---------|------------------|-----------------------------------|
|          | 25 mm                                         | 75 mm   |                  |                                   |
| 1        | 5 mm                                          | 46,7 mm | 41,7             | 82,1                              |
| 2        | 5                                             | 12,4    | 7,4              | 14,6                              |
| 3        | 5                                             | 6,5     | 1,5              | 2,9                               |
| 4        | 5                                             | 5,2     | 0,2              | 0,4                               |
| 5        | 5                                             | 5,0     | 0,0              | 0,0                               |

Le segment de sommet, à lui seul, intervient pour plus de 82 % dans la croissance totale de l'hypocotyle et le deuxième segment pour près de 15 %. Les trois fragments de base, c'est-à-dire aussi, les 3/5 de l'hypocotyle ne grandissent pratiquement pas.

## 2me Essai

Des traits distants de 1,5 mm sont dessinés à l'encre de Chine sur des hypocotyles (une dizaine par série) ayant respectivement, en moyenne : 12 mm, 24 mm, 33 mm, et 40,5 mm, au départ.

Après quelques jours, les segments primitivement délimités sur ces hypocotyles sont mesurés avec précision (voir tableau 13 et schéma 7).

TABLEAU 13. — *Croissance de l'hypocotyle*

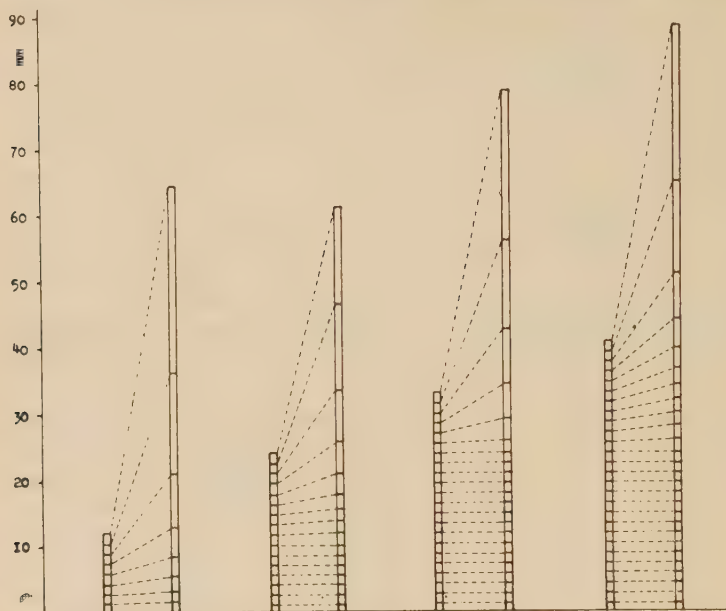
|                                           |      |      |      |      |
|-------------------------------------------|------|------|------|------|
| Longueur moyenne initiale de l'hypocotyle | 12   | 24   | 33   | 40,5 |
| Nombre de segments par hypocotyle         | 8    | 16   | 22   | 28   |
| Longueur initiale des segments            | 1,5  | 1,5  | 1,5  | 1,5  |
| Longueur moyenne finale de l'hypocotyle   | 64,4 | 61,1 | 78,2 | 87,8 |

A. Longueur finale des segments

B. Pourcentage de la croissance de chaque segment dans la croissance totale de l'hypocotyle.

| Segments n° | A    |       | B   |       | A   |       | B   |      | A |  | B |  |
|-------------|------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|------|---|--|---|--|
|             |      |       |     |       |     |       |     |      |   |  |   |  |
| 1           | 28,1 | 50,71 | 4,7 | 35,52 | 2,3 | 45,02 | 3,4 | 47,9 |   |  |   |  |
| 2           | 15,5 | 26,71 | 3,0 | 31,01 | 3,3 | 25,61 | 3,8 | 26,9 |   |  |   |  |
| 3           | 8,0  | 12,4  | 7,7 | 16,7  | 8,1 | 14,2  | 6,7 | 11,4 |   |  |   |  |
| 4           | 4,3  | 5,3   | 4,6 | 8,3   | 5,3 | 8,4   | 4,4 | 6,4  |   |  |   |  |
| 5           | 3,1  | 3,0   | 3,4 | 5,1   | 3,1 | 3,5   | 3,0 | 3,2  |   |  |   |  |
| 6           | 2,2  | 1,3   | 2,1 | 1,6   | 2,3 | 1,7   | 2,1 | 1,3  |   |  |   |  |
| 7           | 1,6  | 0,3   | 1,7 | 0,5   | 1,9 | 0,8   | 2,0 | 1,0  |   |  |   |  |
| 8           | 1,6  | 0,3   | 1,7 | 0,5   | 1,7 | 0,4   | 1,8 | 0,7  |   |  |   |  |
| 9           |      |       | 1,6 | 0,4   | 1,6 | 0,2   | 1,7 | 0,4  |   |  |   |  |
| 10          |      |       | 1,6 | 0,4   | 1,6 | 0,2   | 1,7 | 0,4  |   |  |   |  |
| 11          |      |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0   | 1,6 | 0,2  |   |  |   |  |
| 12          |      |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0   | 1,6 | 0,2  |   |  |   |  |
| 13          |      |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 14          |      |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 15          |      |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 16          |      |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 17          |      |       |     |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 18          |      |       |     |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 19          |      |       |     |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 20          |      |       |     |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 21          |      |       |     |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 22          |      |       |     |       | 1,5 | 0,0   | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 23          |      |       |     |       |     |       | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 24          |      |       |     |       |     |       | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 25          |      |       |     |       |     |       | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 26          |      |       |     |       |     |       | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 27          |      |       |     |       |     |       | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |
| 28          |      |       |     |       |     |       | 1,5 | 0,0  |   |  |   |  |

FIGURE 7. — Croissance de l'hypocotyle, à ses différents niveaux.



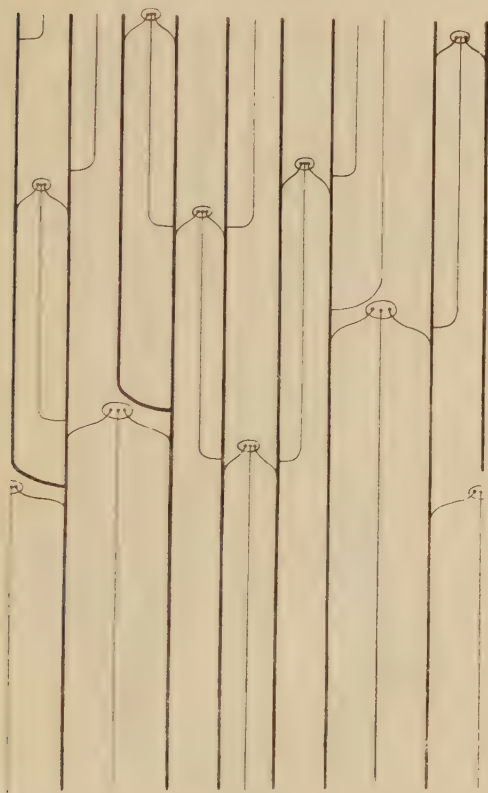
Quelle que soit la longueur de l'hypocotyle au départ, sa croissance ultérieure est toujours due exclusivement à sa région de sommet. Les 5 ou 6 premiers millimètres réunis réalisent plus de 90 % de cette croissance; le premier millimètre et demi à lui seul près de 50 %.

#### V. — ANATOMIE ET HISTOLOGIE DE L'HYPCOTYLE DE BALSAMINE

Nous avons donné ailleurs (\*) la description détaillée des tissus constituant l'hypocotyle et l'épicotyle, et le parcours des faisceaux dans la Balsamine adulte.

(\*) : a fait l'objet d'une partie de notre Mémoire de Licence.

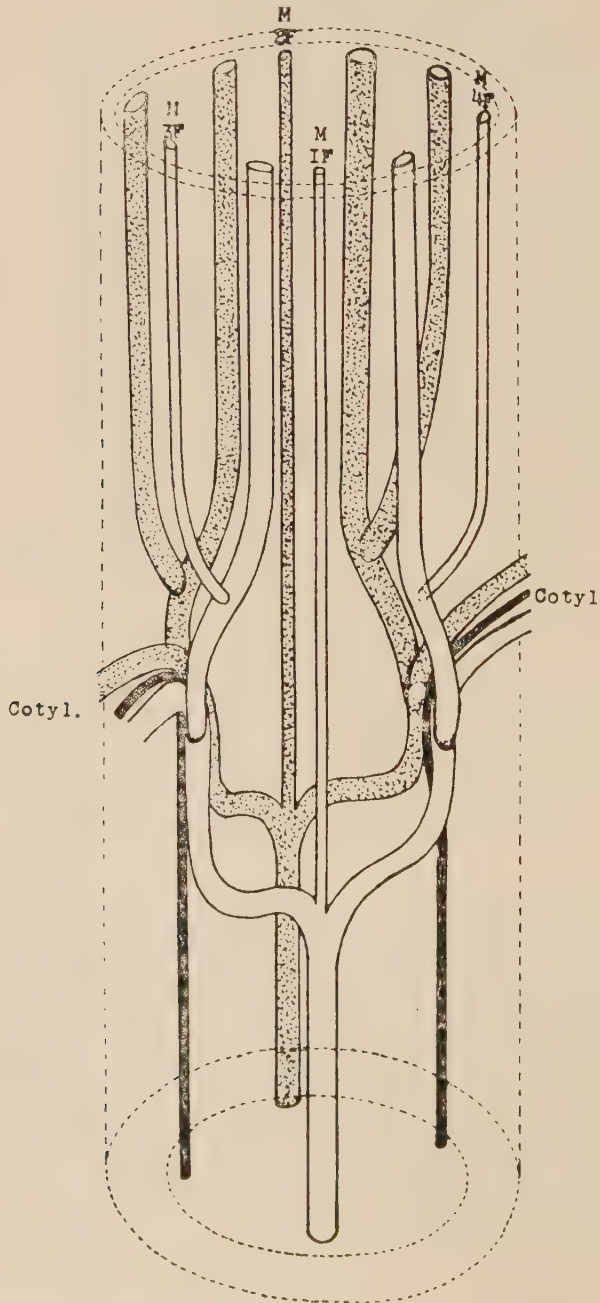
**Parcours des faisceaux dans la Balsamine**  
(épicotyle et huit entrenœuds)



La figure (8) complète cette étude par la description du raccord assez compliqué des faisceaux, de l'épicotyle à l'hypocotyle, au niveau d'insertion des cotylédons.

La structure vasculaire de l'hypocotyle est identique sur toute sa longueur. Elle révèle 4 pôles de protoxylème alternant avec 4 pôles de protophloème. La structure des triades, généralement observée dans la grande majorité des tissus hypocotylaires se retrouve seulement dans les

FIGURE 8. — Connexions anatomiques au niveau d'insertion des cotylédons



cotylédons, ce qui confirme les observations de CHAUVÉAUD (9).

Dans chaque cotylédon, il y a trois faisceaux : 1 médian et 2 latéraux. Les faisceaux latéraux sont plus gros, ils présentent un xylème plus important que celui du faisceau médian.

Les faisceaux rentrent dans l'hypocotyle et l'on constate qu'un faisceau latéral d'un cotylédon se joint à un faisceau latéral de l'autre cotylédon, pour former un faisceau unique, qui parcourt l'hypocotyle sur toute sa longueur.

Le faisceau médian du cotylédon parcourt, lui aussi, l'hypocotyle, sur toute sa longueur. Il se joint, sur une très courte région du sommet de l'hypocotyle, aux autres faisceaux.

Parmi les 4 faisceaux caractéristiques de l'hypocotyle : deux sont les faisceaux médians venant des cotylédons; ils sont opposés l'un à l'autre;

deux proviennent de l'union des faisceaux latéraux des cotylédons.

Au sommet de l'hypocotyle, avant leur anastomose, les deux faisceaux latéraux de chaque cotylédon ont reçu les faisceaux venant des feuilles.

De multiples coupes transversales et longitudinales ont été pratiquées, en particulier, dans la région de sommet de l'hypocotyle. Elles révèlent que les quelques millimètres du sommet de l'hypocotyle sont composés de cellules nettement plus petites que celles de la base, mais que la structure de la base n'en est pas modifiée.

Le sommet de l'hypocotyle possède donc, non pas un méristème caractéristique de tige, mais une région où les tissus ont des activités pseudo-méristématiques.

Cette caractéristique se retrouve dans les hypocotyles de nombreuses espèces et MANGENOT vient d'en faire une étude intéressante dans le gynophore de l'Arachide.

### *Conclusions*

Dans les conclusions définies de nos cultures, la prise d'eau, la germination et la croissance de la plantule de Balsamine suivent un rythme caractéristique et constant, qui sera décrit, spécialement, dans d'autres circonstances.

La croissance de l'hypocotyle se réalise à partir de l'élongation intercalaire due à la prise d'eau normale puis à partir de multiplications cellulaires des tissus pseudo-méristématiques de son sommet.

## CHAPITRE II

### ETUDE DE LA NEOFORMATION RADICULAIRE SUR LES HYPOCOTYLES ENTIERS

HYPOCOTYLES NON INANITIÉS, CULTIVÉS AVEC 0 1 OU  
2 COTYLÉDONS, OU AVEC FEUILLES; HYPOCOTYLES  
INANITIÉS

La littérature est unanime pour affirmer que des hypocotyles entiers de plantules, débarrassés de leurs cotylédons et de leurs racines primordiales révèlent la néoformation d'un nombre limité et défini de racines dans des conditions de culture précises.

Elle a également mis au point les distinctions nécessaires entre croissance et néoformation. En effet, R. et M. BOUILLENNE ont obtenu (5) des hypocotyles, dont le nombre de racines a atteint une limite, mais où la croissance des racines peut être très considérable ou très restreinte selon les facteurs de nutrition contenus dans le milieu.

Nous avons exposé, précédemment, comment, par une technique appropriée, nous avons réussi à observer, à partir d'un stade précoce, la néoformation des racines dans la profondeur des tissus hypocotylaires, mettant en évidence les tous premiers débuts de la formation des racines au sein de ces tissus.

Nous allons décrire les observations faites dans ce but.

Trois cents plantules, aussi semblables que possible (hypocotyles longs d'environ 55 mm), sont triées avec

soin d'un semis de 2000 sujets. Les hypocotyles sont préparés suivant la technique habituelle : élimination des racines principales, à la base, et, en même temps, élimination des cotylédons. Dans le cas présent, nous avons cherché à décrire la néoformation radiculaire profonde, en présence de 2, 1 et 0 cotylédons.

Chaque hypocotyle est placé, en tube, dans le milieu nutritif habituel, à 26°C, à l'obscurité complète et à environ 95 % d'humidité.

# I. — NÉOFORMATION RADICULAIRE DES HYPOCOTYLES MUNIS DE LEURS COTYLÉDONS (voir tableau 14 et diagramme 9)

La croissance de l'hypocotyle est arrêtée complètement pendant les 3 premiers jours de culture; elle reprend, au 4<sup>me</sup> jour, de manière très accélérée (au total, 6 mm); elle ralentit, ensuite, et s'arrête du 10<sup>me</sup> au 12<sup>me</sup> jour.

DIAGRAMME 9. — Néoformation des primordiums radiculaires sur l'hypocotyle, avec ou sans cotylédons.

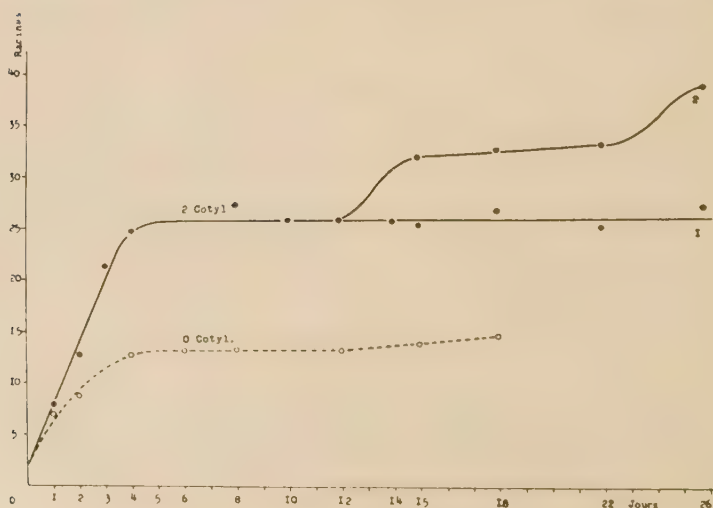


TABLEAU 14. — *Croissance des hypocotyles cultivés avec ou sans cotylédons*

| Jours de culture  | Longueur de l'hypocotyle<br>(en mm, moyenne sur 15) |             | Croissance quotidienne<br>(en mm) |             |
|-------------------|-----------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|-------------|
|                   | Avec Cotyl.                                         | Sans Cotyl. | Avec Cotyl.                       | Sans Cotyl. |
| 0                 | 56                                                  | 53          | —                                 | —           |
| 1                 | 56                                                  | 53          | —                                 | —           |
| 2                 | 56                                                  | 53          | —                                 | —           |
| 3                 | 56                                                  | 53          | —                                 | —           |
| 4                 | 62                                                  | 56          | 6,0                               | 3,0         |
| 6                 | 73                                                  | 58          | 4,5                               | 1,0         |
| 8                 | 76                                                  | 60          | 1,5                               | 1,0         |
| 10                | 85                                                  | 61          | 4,5                               | 0,5         |
| 12                | 85                                                  | 61          | —                                 | —           |
| 15                | 95                                                  | 62          | 3,3                               | 0,3         |
| 18                | 95                                                  | 62          | —                                 | —           |
| 22                | 108                                                 | 62          | 3,2                               | —           |
| 26                | 108                                                 | 62          | —                                 | —           |
| Croissance totale | 52                                                  | 9           |                                   |             |

Une deuxième reprise, moins importante (3,3 mm) se situe du 13<sup>me</sup> au 15<sup>me</sup> jour, avec arrêt jusqu'au 18<sup>me</sup>. Une dernière étape, au 22<sup>me</sup> jour, avec arrêt de croissance se prolongeant, au moins, jusqu'au 26<sup>me</sup> jour.

La technique d'observation par fixation et éclaircissement, nous permet de préciser, qu'au départ, les hypocotyles possèdent déjà, en moyenne, deux primordiums de racines, alors qu'à l'extérieur, rien n'est décelable.

Après le premier jour de culture, ce nombre de primordiums a augmenté de façon notable : il y en a environ 8 par hypocotyle. Au cours du deuxième jour, 5 racines nouvelles se forment, mais c'est surtout au troisième jour

TABLEAU 14. — *Néoformation des racines dans les hypocotyles cultivés avec et sans cotylédons*

| Jours de culture | Nombre des racines néoformées par hypocotyle (moyenne sur 15) |                 |
|------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------|
|                  | Sans Cotylédons                                               | Avec Cotylédons |
| 0                | 2,2                                                           | 2,2             |
| 1                | 7,0                                                           | 8,0             |
| 2                | 8,7                                                           | 12,7            |
| 3                | —                                                             | 21,4            |
| 4                | 12,8                                                          | 24,8            |
| 6                | 13,2                                                          | —               |
| 8                | —                                                             | 27,2            |
| 10               | —                                                             | 25,9            |
| 12               | 13,2                                                          | —               |
| 14               | —                                                             | 25,6            |
|                  |                                                               | (*)             |
| 15               | 13,9                                                          | 25,4 + 5,7      |
| 18               | 14,6                                                          | 26,8 + 8,0      |
| 22               | —                                                             | 25,1 + 8,5      |
| 26               | —                                                             | 27,2 + 14,1     |

que la néoformation est intense : 8 à 9 racines, ce qui porte à plus de 21 la moyenne des racines formées après trois jours. Le rythme quotidien de la néoformation diminue ensuite : 3, 2, 1 racines et, à partir du sixième jour, toute néoformation cesse jusqu'au douzième jour.

A ce moment, les racines néoformées dans les tissus de l'hypocotyle, apparaissent à l'extérieur, progressivement, de telle sorte qu'au 12<sup>me</sup> jour 24 sont déjà visibles (sur les 26 primordiums formés).

(\*) Nous donnons séparément :

a) le nombre des racines apparues sur une longueur d'hypocotyle égale à celle du début de l'expérience (courbe 1);

b) le nombre des racines apparues sur le sommet nouvellement formé des hypocotyles (courbe 2).

A partir du 12<sup>me</sup> jour, de nouvelles racines se forment. Elles sont presque toutes situées au sommet de l'hypocotyle, qui a grandi fortement depuis le début de l'expérience (16,5 mm en moyenne). Cette nouvelle activité rhizogénique est cependant beaucoup plus faible que celle du début : six racines nouvelles par hypocotyle entre le 12<sup>me</sup> et le 15<sup>me</sup> jour, deux du 15<sup>me</sup> au 18<sup>me</sup>, une à peine, du 18<sup>me</sup> au 22<sup>me</sup>; enfin, une recrudescence avec 6 nouvelles racines du 22<sup>me</sup> au 26<sup>me</sup> jour, dernier jour de nos observations.

Presque toutes les racines formées à partir du 12<sup>me</sup> jour sont situées au-dessus de celles qui ont apparu pendant la première activité rhizogénique. Ces dernières grandissent dans le milieu de culture, mais leur nombre n'augmente plus.

La position, sur l'hypocotyle de la deuxième activité rhizogénique observée dans les tissus, coïncide avec la région où se trouve le pseudo-méristème; de plus, cette néoformation radiculaire qui s'installe après le 12<sup>me</sup> jour est synchronisée avec la reprise de croissance de l'hypocotyle, à ce moment.

## II. — NÉOFORMATION RADICULAIRE DES HYPOCOTYLES SANS COTYLÉDONS (voir tableau 14 et diagramme 9)

La croissance de l'hypocotyle est nulle pendant les trois premiers jours de culture; elle est accélérée au 4<sup>me</sup> jour, ralentit puis s'arrête à nouveau du 10<sup>me</sup> au 12<sup>me</sup> jour; nouvelle croissance du 13<sup>me</sup> au 15<sup>me</sup> jour, puis arrêt définitif.

Au début de la culture, la fixation rend visibles au

moins deux primordiums de racines à la base de chaque hypocotyle.

L'amputation et la mise en culture de l'hypocotyle sont suivies immédiatement de la formation d'un nombre considérable de primordiums radiculaires. Après le 1<sup>er</sup> jour, 8 racines sont visibles, y compris les primordiums préformés.

Cette activité rhizogénique considérable dure 4 jours. A ce moment, près de 13 primordiums sont néoformés. Les premières racines naissent à la base de l'hypocotyle, ensuite, elles se montrent sur toute sa longueur.

Après cette période de 4 jours, d'intense néoformation radiculaire, on note un arrêt complet jusqu'au 12<sup>me</sup> jour. Deux ou trois racines nouvelles apparaissent ensuite au sommet de l'hypocotyle, dans la région dont la croissance a été faible.

Il résulte de ces observations sur les hypocotyles avec ou sans cotylédons, qu'au premier jour, le nombre des racines néoformées est approximativement le même; le début de la néoformation n'est pas influencé par l'absence des cotylédons.

A partir du deuxième jour, les deux courbes divergent. Elles atteignent chacune un palier au 6<sup>me</sup> jour : respectivement 24,8 et 12,8 primordiums. Ces paliers se maintiennent 6 jours. Au 12<sup>me</sup> jour, commence une nouvelle formation radiculaire dans les deux séries : très intense pour les hypocotyles avec cotylédons et presque nulle pour les hypocotyles sans cotylédons.

Dans les deux cas, le matériel réagit donc de la même manière : d'abord formation brusque d'un nombre important de racines (plus avec cotylédons que sans cotylédons); ensuite, un palier; enfin, reprise de la néoforma-

tion, au sommet, sous la dépendance du pseudo-méristème, en rapport avec l'activité de celui-ci : intense en présence des cotylédons, extrêmement faible sans les cotylédons.

On pourrait se demander si l'abaissement constaté dans le palier de la néoformation sans cotylédons est bien proportionnel au nombre des cotylédons. Ainsi, lorsque l'on supprime un seul cotylédon au lieu des deux, obtient-on une valeur intermédiaire ?

Des hypocotyles d'âge physiologique identique sont répartis en trois lots : respectivement avec 2, 1 et 0 cotylédons. Ces cultures sont maintenues seulement pendant 4 jours. (voir tableau 15 et diagramme 10).

Au départ, il y a environ 2 racines préformées à l'intérieur des tissus de tous les hypocotyles.

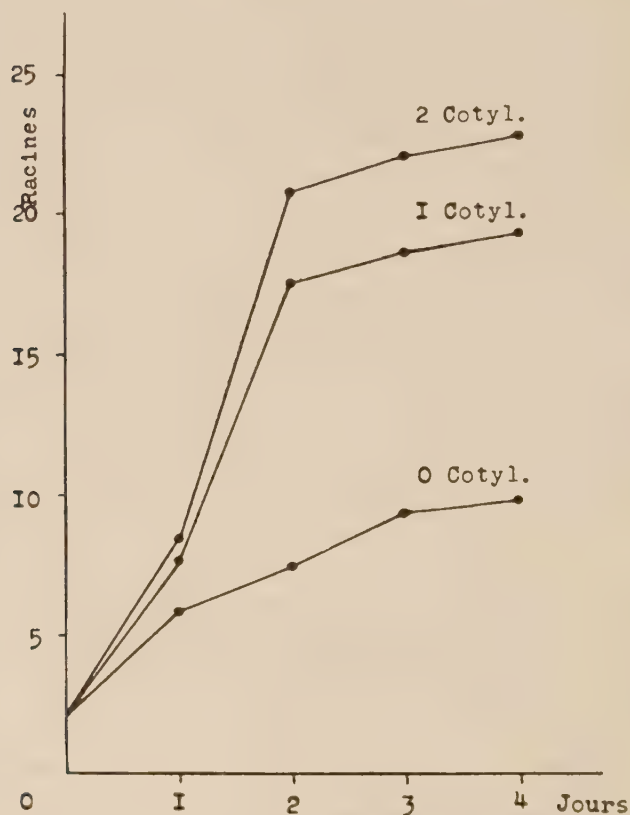
Le premier jour, la différence entre les trois séries est assez faible : respectivement 8,4 — 7,6 — 5,8 primordiums, mais elle augmente au 2<sup>me</sup> jour : la série sans cotylédons présente seulement 3 racines nouvelles tandis que les deux autres séries en forment respectivement 10 et 11.

Nous constatons donc que l'intensité de la néoforma-

TABLEAU 15. — *Néoformation raculaire des hypocotyles munis de 2, 1 et 0 cotylédons (obscurité complète, 26° C, milieu nutritif, observations sur matériel fixé)*

| Jours | Nombre moyen de racines par hypocotyle<br>(moyenne sur 15) |          |          |
|-------|------------------------------------------------------------|----------|----------|
|       | 2 Cytol                                                    | 1 Cotyl. | 0 Cotyl. |
| 0     | 2,2                                                        | 2,2      | 2,2      |
| 1     | 8,4                                                        | 7,6      | 5,8      |
| 2     | 20,7                                                       | 17,5     | 7,4      |
| 3     | 22,0                                                       | 18,6     | 9,5      |
| 4     | 22,7                                                       | 19,3     | 9,8      |

DIAGRAMME 10. — Néoformation des primordiums radiculaires sur l'hypocotyle, avec 2, 1 ou 0 cotylédons.



tion radiculaire, dans les premiers jours, tout en dépendant visiblement du nombre des cotylédons, n'est pas proportionnelle au nombre de ceux-ci. Il semblerait que la présence de 1 ou de 2 cotylédons favorise, dans l'ensemble, l'intensité du phénomène et que l'absence de cotylédon la diminue très considérablement.

Ces observations, qui sont faites en milieu nutritif complet, excluent, dans une grande mesure, le rôle éven-

tuel, pour les cotylédons, de fournisseurs de matières nutritives. Leur action sur la rhizogenèse est donc indéniable. Nous confirmons ainsi les points de vue proposés par BOUILLENNE (1933), où les observations ont été faites sur milieu aqueux et aussi sur milieu sucré.

De plus, il est important de signaler que le dénombrement des racines a été effectué, dans notre cas, par la technique d'observation sur matériel fixé et que nous avons exprimé, ainsi, le potentiel maximum de racines apparues dans nos conditions d'expérience.

Cependant, nous ajoutons une idée nouvelle, c'est que, quel-que soit le nombre des cotylédons présents, la rhizogenèse manifeste un type d'intensité fort différent de celui que l'on enregistre lorsqu'il n'y a pas de cotylédons.

### III. — ETUDE DES PROCESSUS DE LA NÉOFORMATION RADICULAIRE DANS LES ROOT-TESTS INANITIÉS DE IMPATIENS BALSAMINA

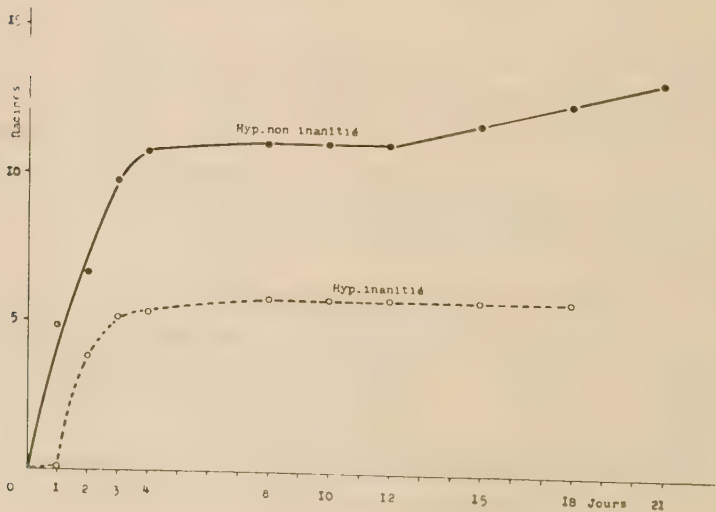
Après avoir subi une inanition de 8 jours (décapitation des cotylédons, culture, pendant 8 jours, en présence des racines, puis enlèvement de ces racines), les hypocotyles ont été mis en expérience dans les conditions habituelles et dans la solution nutritive. (voir tableau 16 et diagramme 11).

Au départ, les hypocotyles inanitiés possèdent 4 à 5 primordiums radiculaires. Après 1 jour, ils n'en contiennent pas davantage. Au 2<sup>me</sup> jour, 4 racines nouvelles apparaissent, en moyenne sur chaque hypocotyle. Du 2<sup>me</sup> au 3<sup>me</sup> jour, encore 1 ou 2 racines. Pendant les 3 jours suivants, un léger supplément (à peine une racine par hypo-

TABEAU 16. — *Néoformation raculaire observée dans des hypocotyles inanitiés et non inanitiés, prélevés et fixés chaque jour. (moyenne sur 15)*

| Jours | Nombre de racines dénombrées sur |               |
|-------|----------------------------------|---------------|
|       | Hyp. non inanitié                | Hyp. inanitié |
| 0     | 2,2                              | 4,5           |
| 1     | 7,0                              | 4,6           |
| 2     | 8,8                              | 8,2           |
| 3     | 11,9                             | 9,6           |
| 4     | 12,9                             | 9,8           |
| 5     | »                                | »             |
| 6     | »                                | »             |
| 7     | »                                | »             |
| 8     | 13,2                             | 10,3          |
| 12    | 13,2                             | 10,3          |
| 15    | 13,9                             | 10,3          |
| 18    | 14,6                             | 10,3          |
| 22    | 15,4                             | —             |

DIAGRAMME 11. — *Néoformation des primordiums raculaires sur hypocotyle inanitié et non inanitié*



cotyle). A partir du 6<sup>me</sup> jour, jusqu'au 22<sup>me</sup>, il n'apparaît plus aucune racine.

Chaque hypocotyle traité par inanition (root-test), mis en milieu nutritif complet, révèle donc un potentiel radicaire limité de 10 racines, qui se maintient sans progression pendant de nombreux jours. Ce comportement des root-tests est classique; le nombre maximum de racines obtenu diffère selon les variétés des *Impatiens Balsamina* utilisées.

Le root-test mis dans l'eau n'en révèle pratiquement pas, pour des raisons évidentes de carence nutritive. (BOUILLENNE 1933, R. et M. BOUILLENNE 1938).

Le fait important à retenir est que des tissus hypocotylaires, mis en milieu nutritif complet, ne peuvent pas former de nouvelles racines indéfiniment et que, même avec notre technique d'observation approfondie, aucune indication de nouvelles racines n'apparaît après 8 jours.

Quand on compare la néoformation radicaire sur les hypocotyles non inanitiés et inanitiés, on voit que :

1) Au départ, les hypocotyles non inanitiés n'ont que 2 primordiums environ, tandis que les root-tests inanitiés, plus vieux de 8 jours, en ont 4 à 5.

2) La néoformation sur les hypocotyles inanitiés, déclenchée par la suppression des racines principales, commence avec un jour de retard sur celle des hypocotyles non inanitiés.

3) Après 12 jours, le nombre des racines néoformées sur les hypocotyles inanitiés, est plus petit que le nombre des racines apparues sur les hypocotyles non inanitiés.

4) Compte tenu du retard dans le développement de la néoformation chez les hypocotyles inanitiés, la vitesse de la néoformation est identique dans les deux séries, à partir

de son déclenchement, pendant les 24 premières heures : 3,9 racines se forment par hypocotyle non inanitié et 3,7 par hypocotyle inanitié.

5) Cette vitesse de néoformation se maintient pendant 3 jours dans les hypocotyles non inanitiés alors qu'elle dure un seul jour dans les inanitiés.

La différence quantitative de néoformation dans les deux séries semble donc provenir uniquement du fait que la rhizogenèse déclenchée par la suppression des racines principales dure 3 jours dans les hypocotyles non inanitiés et un seul jour dans les hypocotyles inanitiés.

6) Enfin, seuls les hypocotyles non inanitiés continuent à former quelques racines après le 12<sup>me</sup> jour. Ces racines apparaissent de façon sporadique (2 racines, en moyenne, par hypocotyle), dans la région de sommet de l'hypocotyle, ainsi que nous l'avons vu précédemment.

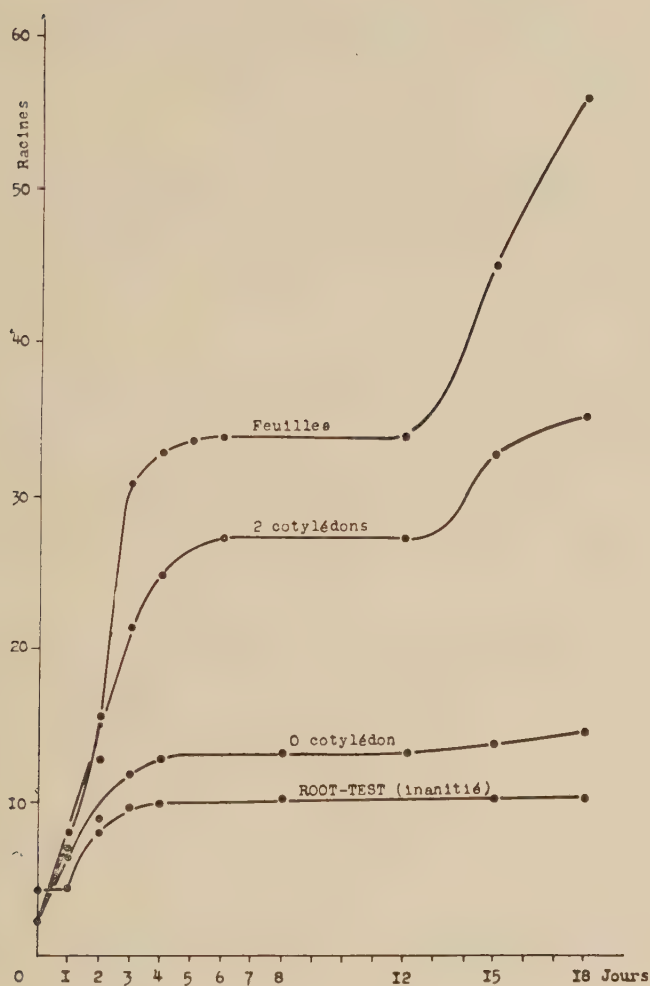
#### IV. — RÉPONSE RHIZOGÉNIQUE DES HYPOCOTYLES DE PLANTES ADULTES, A LA PRÉSENCE DES FEUILLES

Nous avons étudié (NOEL 1947) l'action des feuilles sur la rhizogenèse. Nous y avons cherché à préciser les conditions et le timing d'apparition des racines, en pénétrant, grâce à notre technique d'observation, dans les tous premiers stades du phénomène, que déclenche l'amputation de la touffe des racines principales et autres qui se sont formées à la base de ces hypocotyles.

Nous reproduisons les résultats dans la courbe du diagramme 12.

Cette courbe indique une forte néoformation pendant les trois premiers jours, puis un arrêt du 6<sup>me</sup> au 12<sup>me</sup>

DIAGRAMME 12. — Néoformation radiculaire sur l'hypocotyle :  
avec feuilles, avec cotylédons, sans cotylédons, sur root-test  
inanitié.



jour, une reprise de la néoformation au 13<sup>me</sup> jour et un second arrêt au 18<sup>me</sup> jour.

Il est intéressant de comparer cette courbe à celles que

nous avons mises en évidence sur le timing de la néoformation sur les hypocotyles de plantules munies de 2 cotylédons, sans cotylédons et le root-test inanitié.

Cette courbe est la réplique de celles que nous avons décrites page 62. Elles diffèrent seulement par la hauteur des paliers :

- 6 racines aux root-tests inanitiés,
- 11, aux hypocotyles non inanitiés sans cotylédons,
- 24, aux hypocotyles non inanitiés avec deux cotylédons,
- 31, aux hypocotyles de plantes adultes, munies de 10-12 feuilles.

Nous remarquerons :

1) Dans les hypocotyles munis de feuilles, de 2 cotylédons comme dans ceux dépourvus de cotylédons, la néoformation se déclenche d'un bloc, dès le début de l'expérience; elle est pratiquement terminée au 3<sup>me</sup> jour. Les inanitiés répondent d'une manière à peu près pareille mais avec un temps de latence de 24 heures.

2) Dans tous les cas, un palier marquant un arrêt dans la néoformation, s'installe nettement à partir du 6<sup>me</sup> jour environ et se maintient jusqu'au 12<sup>me</sup> jour. S'il est permanent dans le root-test inanitié, il se transforme, à partir du 12<sup>me</sup> jour, en une courbe ascendante d'autant plus accentuée que l'on va respectivement des hypocotyles sans cotylédons aux hypocotyles avec 2 cotylédons et avec feuilles.

3) Il y a nettement deux étapes dans la rhizogenèse des hypocotyles. Une première, importante et brusque, qui correspond à l'amputation des racines, une deuxième qui se situe à partir du 12<sup>me</sup> jour, alors que la première rhizogenèse est terminée depuis 6 jours environ.

La première poussée radiculaire se développe en courbes

pratiquement parallèles pour tous les hypocotyles expérimentés, sauf le root-test inanitié qui part avec retard. La hauteur à laquelle ces courbes s'arrêtent et font un palier semble indiquer deux manières d'être des hypocotyles. D'une part, celle qui correspond aux hypocotyles dépourvus de cotylédons ou de feuilles et, d'autre part, ceux qui sont munis de ces organes.

C'est la présence de ces organes, cotylédons ou feuilles, quels qu'ils soient, qui fait que la rhizogenèse de premier jet est à un niveau élevé dans la première catégorie. C'est l'absence de ces organes qui laisse la rhizogenèse à un niveau bas.

Comme toutes ces expériences sont faites en milieu nutritif complet nous ne pouvons pas postuler ici, pour expliquer cette différence, l'intervention de facteurs nutritifs en tant que tels, mais bien plutôt l'apport, par les cotylédons ou les feuilles, de systèmes enzymatiques particuliers, dont nous discuterons plus loin.

Dans tous les cas, cette rhizogenèse de premier jet ne paraît pas être sous la dépendance directe du nombre des cotylédons ou du nombre des feuilles.

Il en est tout autrement de la rhizogenèse de deuxième jet. Celle-ci a, selon nous, été déclenchée, par l'amputation, au départ de l'expérience. Elle se manifeste seulement 12 jours après cette intervention.

Elle est tout à fait nulle dans les root-tests inanitiés,

Elle est presque nulle dans les hypocotyles non inanitiés sans cotylédons.

Elle est assez faible dans les hypocotyles avec cotylédons.

Elle est nettement plus intense dans les boutures feuil-

lées, où elle semble assez proportionnée au nombre des feuilles (MOUREAU 1940).

Elle intéresse la région de sommet de l'hypocotyle de plantule, où nous avons précédemment signalé l'existence, en voie de croissance, d'un pseudo-méristème.

En ce qui concerne les hypocotyles adultes, porteurs de feuilles, les racines se multiplient abondamment tout le long de l'axe hypocotylaïre. Nous étudierons à partir de quels tissus ces racines de deuxième jet sont initiées. Nous pouvons, dès maintenant affirmer qu'elles ont un aspect différent des premières; elles sont courtes et épaisses.

Les observations que nous venons de terminer nous ont donc montré que le potentiel de néoformation racinaire, dans les hypocotyles, est double. D'une part, un potentiel brusquement décelé par l'amputation expérimentale, et qui correspond aux cellules du péricycle de l'hypocotyle. Ces cellules semblent préparées à former des racines, en réponse à une action de réveil mitotique (traumatisme). Nous avons dit que le nombre de racines permettant d'évaluer ce potentiel était assez bien le même, en milieu nutritif, en présence de cotylédons ou de feuilles. D'autres (BOUILLIENNE 1933) ont montré qu'il était beaucoup plus bas en milieu dépourvu de substances nutritives.

D'autre part, un potentiel qui met 12 jours à se révéler et qui présente une certaine dépendance vis-à-vis des organes fixés à l'hypocotyle (1 ou 2 cotylédons ou feuilles). Nous pensons que les cellules qui sont, dans ce cas, responsables d'une primordium de racine, ne sont pas prêtes instantanément à révéler ce deuxième potentiel rhizogénique.

Il faut que nous arrivions à discerner les conditions qui distinguent ces deux types de potentiel rhizogénique.

Le premier correspondrait-il à ce que BOUILLENNE appelait le facteur cellulièrement fixé de la rhizogenèse (rhizocaline), le deuxième à l'arrivée, dans certaines cellules du pseudo-méristème ou du cambium, d'un précurseur mobile et des autres facteurs indispensables à la constitution de la rhizocaline fixée ?

Dans ces conditions, il faut rechercher les limites maximales de ces deux formes du potentiel radiculaire.

La fragmentation des hypocotyles permet de penser qu'elle constitue une activation dans le déclenchement des processus de réveil mitotique, qui aboutissent à la différenciation de racines.

Nous verrons, dans le chapitre suivant, le résultat de la fragmentation des hypocotyles.

### CHAPITRE III

#### ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA FRAGMENTATION DES HYPOCOTYLES SUR LEUR NEOFORMATION RADICULAIRE

Nous venons de voir :

1) qu'il était important de pouvoir distinguer, dans la néoformation radiculaire observée dans l'hypocotyle, la part qui reviendrait au facteur fixé de la rhizogenèse et la part qui dépendrait de la translocation d'un précurseur rhizogénique mobile,

2) que la fragmentation des hypocotyles pouvait nous aider à établir cette distinction.

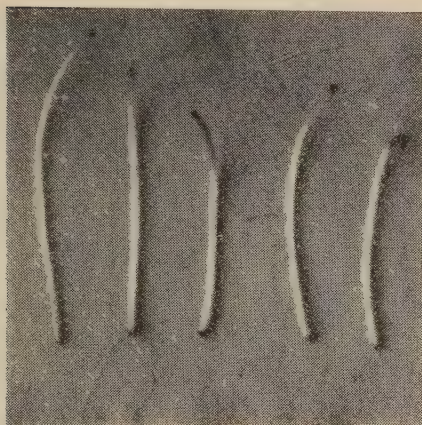
Dans ces conditions, nous avons utilisé des hypocotyles non inanitiés de jeunes plantules, germées dans les conditions habituelles et ayant 40 mm de haut. Ces hypocotyles sont découpés en divers fragments.

Nous avons ainsi cultivé et observé pendant plus d'un mois 1350 fragments et hypocotyles; les fragments d'un même hypocotyle sont numérotés du sommet à la base. Le fragment de sommet est donc le fragment 1, le fragment qui lui est immédiatement inférieur est le fragment 2, et ainsi de suite jusqu'au fragment de base.

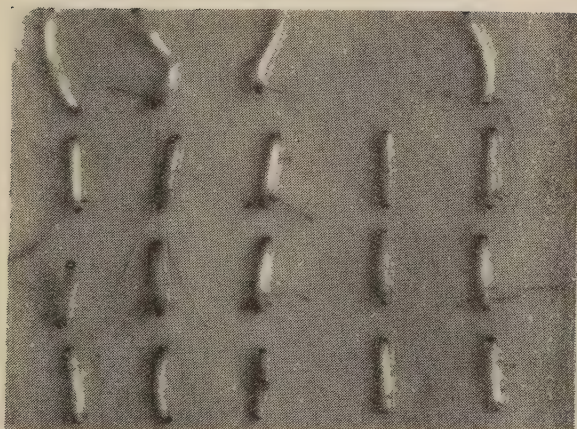
La culture se fait en milieu aseptique, en boîtes petri, sur une épaisse couche de papier-filtre imbibé du milieu nutritif complet, où les fragments sont déposés un à un. La chambre de culture est à la température constante de 26°C, à saturation d'humidité et maintenue à l'obscurité complète.

Le matériel est réparti comme suit : (voir photos)

Hypocotyles entiers de 40 mm

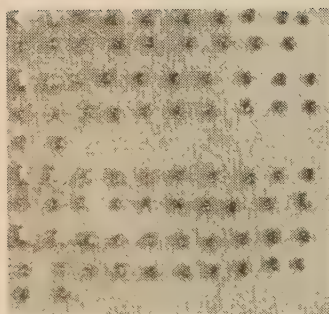


Fragments de 10 mm

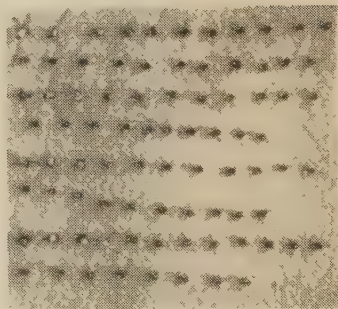


Fragments de 2 mm

Couchés

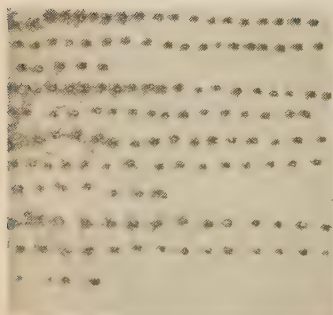


Dressés

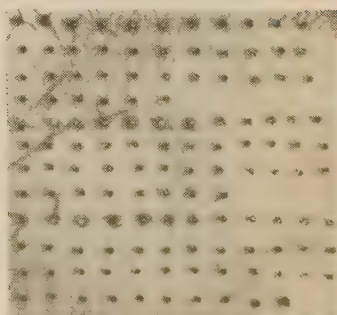


Fragments de 1 mm

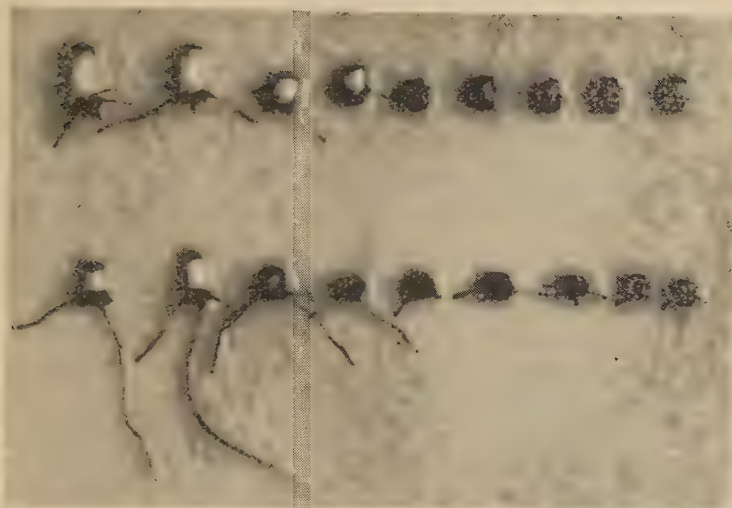
Couchés



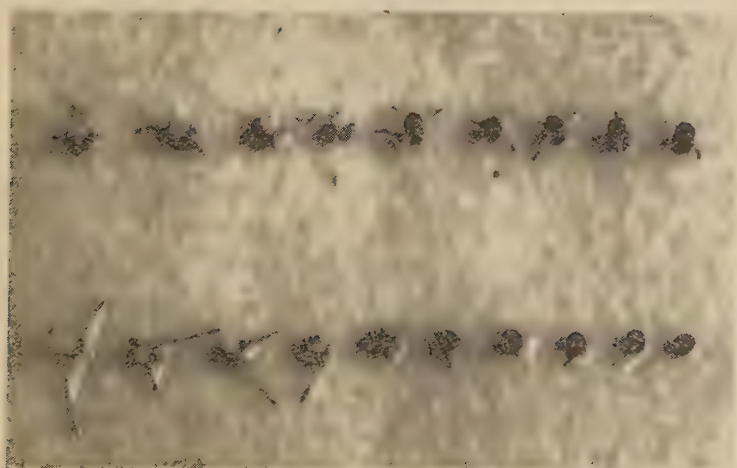
Dressés



Fragments couchés



Fragments dressés



- 1) 10 hypocotyles entiers de 40 mm,
- 2) 10 hypocotyles découpés en fragments de 10 mm, couchés sur le papier-filtre, soit 40 fragments,
- 3) 10 hypocotyles découpés en fragments de 5 mm, couchés sur le papier-filtre, soit 80 fragments,
- 4) 10 hypocotyles découpés en fragments de 2 mm, posés sur la surface inférieure de coupure, position correspondant à celle de l'hypocotyle dressé dans le milieu de culture, soit environ 200 fragments,
- 5) 10 hypocotyles découpés en fragments de 2 mm, posés sur l'épiderme, position correspondant à celle de l'hypocotyle couché, horizontalement sur le milieu de culture, soit environ 200 fragments.
- 6) 10 hypocotyles découpés en fragments de 1 mm, placés comme les fragments de la série 4 (dressés), soit environ 400 fragments,
- 7) 10 hypocotyles découpés en fragments de 1 mm, placés comme les fragments de la série 5 (couchés), soit environ 400 fragments.

Les tableaux et les diagrammes et, en général, la relation des observations, sont un résumé succinct des dizaines de milliers d'observations qui ont été réalisées.

#### A. — POURCENTAGE DE NÉCROSE DANS LES FRAGMENTS

Les hypocotyles entiers et les fragments de 5 mm n'ont manifesté aucune nécrose. Les fragments de 2 mm révèlent un pourcentage assez faible de nécrose, surtout les fragments dressés.

Seuls, les fragments de 1 mm, couchés et dressés, se sont nécrosés en grand nombre. Comme les fragments de

2 mm, les fragments de 1 mm dressés ont, dans l'ensemble, mieux résisté que les fragments couchés.

Le tableau (17) donne la répartition des fragments nécrosés en fin d'expérience, d'après leur position sur l'hypocotyle. Les nombres indiquent le pourcentage des fragments nécrosés, par rapport au nombre des fragments composant chaque quart d'hypocotyle.

TABLEAU 17. — *Pourcentage des fragments nécrosés, par rapport au nombre des fragments composant chaque quart d'hypocotyle (calculé sur 10 hypocotyles)*

| Position des fragments | Hypo-entier | Fragm 10 mm | Fragm 5 mm | Fragments 2 mm |         | Fragments 1 mm |         |
|------------------------|-------------|-------------|------------|----------------|---------|----------------|---------|
|                        |             |             |            | Couchés        | Dressés | Couchés        | Dressés |
| 1/4 Supér.             | 0           | 25          | 0          | 2              | 2       | 55             | 21      |
| 2 <sup>me</sup> quart  | 0           | 20          | 0          | 28             | 4       | 100            | 100     |
| 3 <sup>me</sup> quart  | 0           | 10          | 0          | 35             | 20      | 100            | 100     |
| 1/4 Infér.             | 0           | 50          | 0          | 32             | 2       | 85             | 95      |

N.B. — La nécrose assez importante des fragments de 10 mm est due, en partie, au fait qu'un hypocotyle entier (soit 4 fragments) s'est révélé malade dès le début de la culture.

On constate :

A. — D'une part, pour les fragments de 10 mm, que,

1) Les fragments de sommet et surtout ceux de la base présentent le plus de nécrose,

2) les fragments du milieu sont les moins nécrosés.

B. D'autre part, dans les fragments de 1 et 2 mm, couchés et dressés,

1) les fragments de sommet sont, de loin, les moins nécrosés,

2) les fragments du milieu de l'hypocotyle sont les plus nécrosés, surtout ceux du 3<sup>me</sup> quart,

3) les fragments de la base de l'hypocotyle se nécrosent un peu moins que ceux du milieu.

Il semble donc que le milieu de l'hypocotyle (surtout son 3<sup>me</sup> quart) présente une zone de moindre résistance et que le sommet est une région particulièrement vigoureuse. Elle correspond, en effet, à la présence du pseudo-méristème.

#### B. — COMPORTEMENT DES FRAGMENTS AU COURS DE LA CULTURE

Les hypocotyles et les fragments situés au sommet de l'hypocotyle s'allongent, dès le début de la culture (voir tableau 18). L'allongement total des hypocotyles est assez semblable, qu'ils soient divisés en fragments de 1, 2 ou 10 mm. Seuls, certains fragments de 5 mm se sont moins allongés.

Partout, l'allongement intéresse uniquement les 10 millimètres du sommet de l'hypocotyle. Les résultats de la culture des très petits fragments permettent de limiter cette région aux 7 ou 8 millimètres supérieurs.

Quelle que soit leur position dans le milieu nutritif, les fragments de 1 ou 2 mm s'allongent d'autant plus qu'ils sont découpés dans une région plus haute de l'hypocotyle. Sur les 7 premiers millimètres, il y a un gradient extrêmement marqué de la base au sommet. Ceci met en évidence la position du pseudo-méristème, qui se trouve à l'extrême sommet de l'hypocotyle.

L'épiderme de certains fragments, en particulier celui des fragments de sommet, forme, dès le début de la culture, une grande quantité de poils radicaux entourant le

TABLEAU 18. — *Longueur totale des différents fragments d'hypocotyles, mesurés en fin d'expérience (moyenne sur 10)*

| Niveau sur l'hypocotyle (en mm)  | Fragm. de 10mm | Fragm. 5 mm | Fragm. de 2 mm |         | Fragm. de 1 mm |         |
|----------------------------------|----------------|-------------|----------------|---------|----------------|---------|
|                                  |                |             | Couchés        | Dressés | Couchés        | Dressés |
| 1 mm                             |                |             |                |         | 2,69           | 2,88    |
| 2 mm                             |                |             | 5,17           | 4,14    | 2,50           | 2,01    |
| 3 mm                             |                |             |                |         | 1,57           | 2,01    |
| 4 mm                             |                |             | 3,51           | 3,23    | 1,30           | 1,60    |
| 5 mm                             |                | 7,60        |                |         | 1,07           | 1,27    |
| 6 mm                             |                |             | 2,47           | 2,61    | 1,00           | 1,13    |
| 7 mm                             |                |             |                |         | 1,00           | 1,05    |
| 8 mm                             |                |             | 2,07           | 2,43    | 1,00           | 1,00    |
| 9 mm                             |                |             |                |         | 1,00           | 1,00    |
| 10 mm                            | 15,37          | 5,60        | 2,00           | 2,00    | 1,00           | 1,00    |
| 20 mm                            | 10,00          | 10,00       | 10,00          | 10,00   | 10,00          | 10,00   |
| 30 mm                            | 10,00          | 10,00       | 10,00          | 10,00   | 10,00          | 10,00   |
| 40 mm                            | 10,00          | 10,00       | 10,00          | 10,00   | 10,00          | 10,00   |
| Croissance totale par hypocotyle | 5,37           | 3,20        | 5,22           | 4,41    | 4,13           | 4,95    |

N. B. — Seuls, les résultats de la région s'étant effectivement allongée (10 mm de sommet), sont donnés en détails.

fragment comme un manchon. Ces formations sont plus ou moins denses. Pour pouvoir les comparer, nous leur avons donné les valeurs arbitraires de densité : 0, 10, 20 et 30 (voir tableau 19).

Ce sont les 12 premiers millimètres de l'hypocotyle qui se couvrent de poils. La région la plus privilégiée se situe entre le 3<sup>me</sup> et le 9<sup>me</sup> millimètre, avec maximum aux 5<sup>me</sup> et 6<sup>me</sup>, excepté aux fragments de 2 mm couchés, où elle est reportée au 9<sup>me</sup> millimètre.

Les poils radicaux, dont la formation a été déclenchée

TABLEAU 19. — *Densité des formations de poils radicaux, en fin de culture, dans les fragments de 1 et 2 mm (moyenne sur 10)*

| Niveau sur l'hypocotyle | Densité des poils radicaux (moyenne sur 10) |         |                   |         |
|-------------------------|---------------------------------------------|---------|-------------------|---------|
|                         | Fragments de 2 mm                           |         | Fragments de 1 mm |         |
|                         | Couchés                                     | Dressés | Couchés           | Dressés |
| 1 mm                    |                                             |         | 18                | 13      |
| 2 mm                    | 10                                          | 10      | 17                | 15      |
| 3 mm                    |                                             |         | 20                | 18      |
| 4 mm                    | 10                                          | 13      | 21                | 23      |
| 5 mm                    |                                             |         | 24                | 18      |
| 6 mm                    | 16                                          | 23      | 23                | 21      |
| 7 mm                    |                                             |         | 21                | 18      |
| 8 mm                    | 19                                          | 18      | 21                | 0       |
| 9 mm                    |                                             |         | 21                | 0       |
| 10 mm                   | 23                                          | 0       | 20                | 0       |
| 11 mm                   |                                             |         | 18                | 0       |
| 12 mm                   | 15                                          | 0       | 16                | 0       |

par la fragmentation des hypocotyles, apparaissent donc dans la région basilaire du pseudo-méristème.

Des cals se sont formés sur certains fragments, situés dans la région supérieure des hypocotyles. Les hypocotyles entiers, les fragments de 10 mm et de 5 mm, couchés dans les boîtes de culture, n'ont pas donné de cals, mais les fragments de 2 et de 1 mm en ont formé. Ces cals apparaissent toujours à la surface de la coupure supérieure; leur volume est variable mais n'excède jamais 2 mm cube.

Parmi les fragments couchés, seuls, 6 fragments n° 2, de 2 mm ont formé un cal. Mais ces fragments se sont redressés dès le début de la culture, on peut presque les considérer comme des fragments dressés.

La région de sommet capable de former des cals inté-

resse les 5 à 6 premiers millimètres pour les hypocotyles découpés en fragments de 1 mm, et les 8 à 10 premiers millimètres, pour les hypocotyles découpés en fragments de 2 mm.

Dans ces zones, presque tous les fragments sont capables de former des cals. Le volume de ces cals est variable mais nous avons constaté que les plus gros sont généralement situés entre le 3<sup>me</sup> et le 5<sup>me</sup> millimètre.

Il est remarquable de constater que, bien que ces fragments aient produit des cals à leur partie supérieure, ils n'en ont pas moins formé des racines à la partie basilaire. Nous reparlerons de ce problème plus loin.

D'autre part, le fait qu'aucun cal ne soit apparu, toutes conditions étant égales par ailleurs, sur les fragments couchés, semble indiquer qu'ils répondent à des facteurs respiratoires et non de polarité; mais nous sommes en droit de nous poser la question : pourquoi des fragments aussi petits, et capables de faire des racines, font-ils un cal dans la région subméristématique ?

Dès le début de la culture, et au cours de celle-ci, l'épiderme de certains hypocotyles, entiers ou fragmentés prend une couleur rouge intense. Cette coloration est due à la présence d'anthocyanes dans les vacuoles de certaines cellules. Ces cellules rouges forment une véritable mosaïque dans l'épiderme.

La coloration s'étend :

1) Sur les hypocotyles entiers (4 sur 10), à la base de l'hypocotyle, sur une longueur variable de 2 à 15-20 mm, rarement plus.

2) Sur les fragments de 10 mm (3 hypocotyles sur 10), généralement sur toute la longueur des 2 ou 3 fragments

de base, mais seulement à la base du premier fragment de sommet (2 mm environ);

3) Sur les fragments de 5 mm (6 hypocotyles sur 10), à tous les fragments, depuis ceux de la base de l'hypocotyle, jusqu'à ceux du sommet. Le premier fragment de sommet n'est coloré qu'à sa base.

4) Sur les fragments de 2 mm (couchés : 3 hypocotyles sur 10, dressés : 6 hypocotyles sur 10), sur tous les fragments, sauf les 3 fragments de sommet, et sur toute leur longueur;

5) Sur les fragments de 1 mm (couchés : 1 hypocotyle sur 10, dressés 9 hypocotyles sur 10), sur tous les fragments excepté le premier ou les deux premiers fragments de sommet et sur toute leur longueur.

L'apparition de la pigmentation rouge est indépendante de la fragmentation de l'hypocotyle et de la position des fragments sur le milieu de culture. Elle est liée à un facteur individuel se trouvant, on non, sur toute la longueur de l'hypocotyle.

### *Résultats expérimentaux*

Nous avons cherché à connaître, avec le plus de précision possible, les répercussions de la fragmentation sur la néoformation des racines. Nous avons accordé, en outre, quelque attention, au phénomène de croissance des racines néoformées et au rythme d'apparition de ces racines.

La néoformation racinaire sur les fragments a été évaluée d'après le nombre des racines formées sur des hypocotyles entiers et sur des hypocotyles de même longueur, découpés en fragments de 10, 5, 2 et 1 mm de longueur. Tous ces hypocotyles sont obtenus, comme il

a été dit, sur matériel non inanitié, et cultivés, entiers ou par fragments, sur milieu nutritif complet.

La réponse rhizogénique des divers fragments d'un hypocotyle se révèle différente selon le niveau de l'hypocotyle dans lequel le fragment a été découpé. C'est pourquoi, nous avons tenu, dans le cas des hypocotyles entiers, à situer les racines formées naturellement, dans les niveaux approximatifs où elles se présentent. Nous avons divisé virtuellement l'hypocotyle en 4 quarts.

Le tableau 20 donne le nombre moyen des racines apparues, après 35 jours, sur les hypocotyles et les fragments de différentes longueurs. Les moyennes sont réalisées sur les fragments restés vivants pendant toute la durée de l'expérience.

Les hypocotyles non découpés présentent, comme nous l'avons déjà montré, des régions qui, au point de vue de la rhizogenèse, ne se comportent pas de manière identique.

Il y a, d'abord, au sommet, la région qui correspond au pseudo-méristème; il y a, ensuite, la région du milieu de l'hypocotyle, qui est modérément active; il y a, enfin, la région basilaire, qui présente habituellement la plus grande activité rhizogénique.

La fragmentation modifie-t-elle ces réponses topographiques ? (voir tableau 20).

Nous constatons que les régions hypocotylaires, lorsqu'elles sont découpées en fragments, ne présentent pas les mêmes réactions radiculaires que lorsque l'hypocotyle est entier.

Ainsi, les fragments du milieu de l'hypocotyle ne se présentent plus en état d'infériorité radicigène. Ils sont munis d'un potentiel apparemment égal à celui des autres

TABLEAU 20. — Nombre moyen des racines apparues, après 35 jours, sur les hypocotyles et les fragments de différentes longueurs.

| Niveau sur l'hypo.   | Hypo. entier | Fragm. 10 mm | Fragm. 5 mm | Fragm. 2 mm |                     | Fragm. 1 mm       |                   |
|----------------------|--------------|--------------|-------------|-------------|---------------------|-------------------|-------------------|
|                      |              |              |             | Couchés     | Dressés             | Couchés           | Dressés           |
| 1 mm                 |              |              |             |             |                     | 4,9               | 3,0               |
| 2 mm                 |              |              |             | 5,5         | 4,4                 | 5,0               | 3,1               |
| 3 mm                 |              |              |             |             |                     | 4,4               | 2,6               |
| 4 mm                 |              |              |             | 4,9         | 3,5                 | 4,6               | 2,8               |
| 5 mm                 |              |              | 5,5         |             |                     | 4,7               | 3,2               |
| 6 mm                 |              |              |             | 4,4         | 3,1                 | 4,8               | 2,8               |
| 7 mm                 |              |              |             |             |                     | 4,8               | 3,5               |
| 8 mm                 |              |              |             | 4,6         | 3,4                 |                   | 2,7               |
| 9 mm                 |              |              |             |             |                     |                   |                   |
| 10 mm                |              | 5,0          | 6,3         | 5,5         | 4,1                 |                   |                   |
| Total                |              |              |             |             |                     |                   |                   |
| 1/4 Sup.             | (4,5)        | 5,0          | 11,8        | 24,9        | 18,5 <sup>(2)</sup> | 47 <sup>(1)</sup> | 30 <sup>(1)</sup> |
| 11 mm                |              |              |             |             |                     |                   |                   |
| 12 mm                |              |              |             | 4,8         | 5,4                 |                   |                   |
| 14 mm                |              |              |             | 4,7         | 4,7                 |                   |                   |
| 15 mm                |              |              | 6,9         |             |                     |                   |                   |
| 16 mm                |              |              |             | 3,8         | 4,6                 |                   |                   |
| 18 mm                |              |              |             | 3,3         | 4,7                 |                   |                   |
| 20 mm                |              | 6,6          | 6,7         | 3,6         | 3,7                 |                   |                   |
| Total                |              |              |             |             |                     |                   |                   |
| 2 <sup>me</sup> 1/4  | (1,0)        | 6,6          | 13,6        | 20,2        | 23,1                |                   |                   |
| 22 mm                |              |              |             | 3,8         | 3,5                 |                   |                   |
| 24 mm                |              |              |             | 3,1         | 3,0                 |                   |                   |
| 25 mm                |              |              | 6,5         |             |                     |                   |                   |
| 26 mm                |              |              |             | 3,6         | 3,2                 |                   |                   |
| 28 mm                |              |              |             | 3,1         | 4,4                 |                   |                   |
| 30 mm                |              | 8,0          | 5,6         | 4,1         | 3,6                 |                   |                   |
| Total                |              |              |             |             |                     |                   |                   |
| 3 <sup>me</sup> 1/4  | (3,4)        | 8,0          | 12,1        | 17,7        | 17,7                |                   |                   |
| 32 mm                |              |              |             | 3,7         | 3,7                 |                   |                   |
| 34 mm                |              |              |             | 4,1         | 5,1                 |                   |                   |
| 35 mm                |              |              | 5,1         |             |                     |                   |                   |
| 36 mm                |              |              |             | 3,5         | 4,7                 |                   |                   |
| 38 mm                |              |              |             | 4,6         | 5,1                 |                   |                   |
| 40 mm                |              | 9,0          | 4,6         | 3,7         | 4,7                 |                   |                   |
| Total                |              |              |             |             |                     |                   |                   |
| 4 <sup>me</sup> 1/4  | (6,0)        | 9,0          | 9,7         | 19,6        | 23,3                |                   |                   |
| Total par Hypocotyle | 14,9         | 28,6         | 47,2        | 82,4        | 82,6                |                   |                   |

(<sup>1</sup>) Par suite de la nécrose de certains fragments, les nombres ont été évalués sur la base de 10 fragments sains.

(<sup>2</sup>) Nombres modifiés probablement par la formation de cals.

fragments. Nous verrons plus loin, pourquoi, dans l'hypocotyle entier, il semble être en déficience.

Le tableau nous permet de constater que :

1) Dans le quart supérieur de l'hypocotyle, les fragments donnent, en moyenne, un nombre semblable de racines, quel que soit le découpage;

Le quart supérieur, virtuellement découpé dans un hypocotyle entier, fait 4,5 racines, les fragments de 10 mm, en moyenne, 5 racines, ceux de 5 mm : 5,9; ceux de 2 mm (couchés) 5,0 et ceux de 1 mm (couchés) 4,7 racines.

Ceci veut dire que, chaque fois que l'on découpe un morceau dans le quart supérieur de l'hypocotyle, la réponse est la formation de 5 racines, quelle que soit la longueur du fragment.

La réaction du pseudo-méristème est donc liée à l'action de la coupure. Chaque fois que l'on provoque des mitoses par une coupure, proche cette coupure, se forment 5 racines.

En vérité, il y a d'abord 3 ou 4 racines correspondant aux pôles vasculaires et, ensuite, il en apparaît 1 ou 2 nouvelles, dans le même alignement vertical que l'une ou l'autre des précédentes.

Le potentiel radiculaire total de ce quart supérieur s'obtient en additionnant les racines apparues sur chacun des fragments et il apparaît comme proportionnel au nombre des fragments. Cependant, une telle observation ne se vérifie pas dans les trois quarts inférieurs où l'on constate que les fragments montrent, en moyenne, de moins en moins de racines, lorsqu'ils ont respectivement 10, 5 et 2 mm :

7,7 racines, en moyenne, pour les fragments de 10 mm,

5,9 racines, en moyenne, pour les fragments de 9 mm,

3,8 racines, en moyenne, pour les fragments de 2 mm, couchés.

S'il en est ainsi, la réponse rhizogénique est liée à la longueur du fragment. Plus un fragment est long, évidemment, plus il y a de matériel rhizogénique disponible. Plus il est petit, moins il y en a.

De quel matériel peut-il s'agir, puisqu'en somme, nous travaillons en milieu nutritif complet ?

Il ne peut guère s'agir que de matériaux mobiles, pouvant arriver à la base des fragments où se forment les racines. Nous chercherons plus loin à élucider la question de savoir quel est le matériel mobile, mais nous concluons, dès maintenant, que les trois quarts inférieurs de l'hypocotyle nous mettent en présence d'autres phénomènes que ceux qui caractérisent la région du sommet, où se trouve le pseudo-méristème.

### *Rythme d'apparition des racines*

Nous avons suivi le rythme d'apparition des racines sur les divers fragments d'hypocotyle, en procédant à la numération des racines à des intervalles réguliers. Nous avons calculé le nombre des racines apparues, de moment, en moment, par rapport au nombre total apparu après 35 jours (moyenne sur 10), c'est-à-dire à un moment où la néoformation était pratiquement arrêtée, mais où les fragments cultivés étaient encore en parfaite santé (voir tableau 21).

Il n'est pas tenu compte de la série des fragments de 1 mm qui se sont nécrosés en grand nombre, ni des fragments dressés de 2 mm pour lesquels la formation des cals a modifié les résultats.

TABLEAU 21. — *Pourcentage des racines apparues, de moments en moments, par hypocotyle, dans les diverses séries, par rapport aux nombres des racines formées en fin de culture.*

| Jours        | 3  | 4  | 7  | 12 | 14 | 17 | 28 | 32 | 34 |
|--------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Hyp. entier  | 6  | 24 | 23 | 18 | 6  | 14 | 9  | 0  | 0  |
| Fragm. 10 mm | 11 | 29 | 11 | 17 | 10 | 0  | 0  | 0  | 0  |
| Fragm. 5 mm  | 3  | 31 | 20 | 10 | 2  | 17 | 16 | 0  | 0  |
| Fragm. 2 mm  | 2  | 36 | 37 | 6  | 10 | 0  | 0  | 0  | 0  |

Pour l'ensemble de l'hypocotyle, l'apparition des racines néoformées suit un rythme assez semblable dans toutes les séries : une période de 2 à 3 jours, pendant laquelle les primordiums se forment et croissent à l'intérieur des tissus (ils ne sont pas encore visibles à l'extérieur); une période où les racines apparaissent à l'extérieur, elle commence au 3<sup>me</sup> jour et se poursuit jusqu'au 7<sup>me</sup>; une longue période pendant laquelle des racines nouvelles apparaissent en nombre beaucoup plus réduit; cette période s'étend du 7<sup>me</sup> jour à la fin de l'expérience.

La vitesse d'apparition des racines est exceptionnelle dans les fragments de 2 mm. En effet, au 7<sup>me</sup> jour, 75% des racines y sont apparues contre une cinquantaine de pourcents dans les autres séries.

La longueur moyenne des racines est, en général, d'autant plus grande que ces racines appartiennent à des fragments plus grands. Elle diminue, dans toutes les séries, du sommet à la base de l'hypocotyle.

TABLEAU 22. — *Longueur moyenne des racines apparues sur les fragments de différentes longueurs.*

| Niveau sur l'hypocotyle | Hypoc. entier | Fragm 10 mm | Fragm 5 mm | Fragm. 2 mm |         | Fragm. 1 mm |         |
|-------------------------|---------------|-------------|------------|-------------|---------|-------------|---------|
|                         |               |             |            | Couchés     | Dressés | Couchés     | Dressés |
| 1 mm                    |               |             |            | 4,27        |         | 4,69        | 6,69    |
| 2 mm                    |               |             |            | 4,27        | 3,83    | 4,45        | 6,41    |
| 3 mm                    |               |             |            |             |         | 5,26        | 4,16    |
| 4 mm                    |               |             |            | 4,52        | 2,99    | 2,25        | 3,48    |
| 5 mm                    |               |             | 7,42       |             |         | 1,17        | 1,74    |
| 6 mm                    |               |             |            | 1,97        | 3,23    | 1,40        | 1,39    |
| 7 mm                    |               |             |            |             |         | 1,27        | 1,18    |
| 8 mm                    |               |             |            | 1,71        | 1,57    | 1,52        | 1,17    |
| 10 mm                   |               | 6,3         | 3,12       | 1,12        | 2,02    |             |         |
| 12 mm                   |               |             |            | 0,87        | 1,75    |             |         |
| 14 mm                   |               |             |            | 0,80        | 1,81    |             |         |
| 15 mm                   |               |             | 1,74       |             |         |             |         |
| 16 mm                   |               |             |            | 0,69        | 1,56    |             |         |
| 18 mm                   |               |             |            | 0,76        | 1,27    |             |         |
| 20 mm                   | (1,15)        | 4,3         | 1,98       | 0,56        | 0,81    |             |         |
| 22 mm                   |               |             |            | 0,76        | 1,60    |             |         |
| 24 mm                   |               |             |            | 0,72        | 1,57    |             |         |
| 25 mm                   |               |             | 2,13       |             |         |             |         |
| 26 mm                   |               |             |            | 0,71        | 1,45    |             |         |
| 28 mm                   |               |             |            | 0,57        | 1,29    |             |         |
| 30 mm                   |               | 2,8         | 2,05       | 0,66        | 1,36    |             |         |
| 32 mm                   |               |             |            | 0,66        | 1,58    |             |         |
| 34 mm                   |               |             |            | 0,70        | 1,92    |             |         |
| 35 mm                   |               |             | 1,71       |             |         |             |         |
| 36 mm                   |               |             |            | 0,93        | 1,57    |             |         |
| 38 mm                   |               |             |            | 0,73        | 1,18    |             |         |
| 40 mm                   | (3,86)        | 1,7         | 1,29       | 0,75        | 1,53    |             |         |

# CONCLUSIONS

La culture des fragments de 10, 5, 2 et 1 mm, découpés dans des hypocotyles de Balsamine nous a permis de mettre en évidence quelques faits :

1) Le sommet de l'hypocotyle (12 mm) qui comporte, au point de vue anatomique, un tissu pseudo-méristématique, se comporte de manière particulière.

Tout d'abord, il est particulièrement résistant à la culture : pas de nécrose, même dans les fragments de 1 mm.

Ensuite, il présente une zone de 7 à 8 mm où les fragments manifestent une certaine capacité d'allongement, avec un gradient bien marqué de la base au sommet.

L'épiderme de ces fragments se couvre de poils radicaux, avec un maximum de densité dans le milieu de cette région (aux 5<sup>me</sup> et 6<sup>me</sup> millimètres à partir du sommet).

Enfin, la surface de coupure de l'extrémité supérieure des fragments mis en culture verticalement fait apparaître des cals. La capacité maximum de constituer ceux-ci se situe entre le 3<sup>me</sup> et le 5<sup>me</sup> millimètre, à partir du sommet.

2) En ce qui concerne la formation des racines, le sommet de l'hypocotyle se révèle capable de faire apparaître, lorsqu'il est fragmenté, un nombre assez considérable de racines par rapport à ce que fait ce même tissu non fragmenté (25 à 5). Quelle que soit la longueur des fragments, chaque coupure y détermine 5 nouvelles racines, qui se forment très rapidement et dont le nombre augmente à peine. Il faut cependant préciser que les fragments qui forment des cals font toujours moins de racines que les fragments semblables qui n'en font pas, et inversement.

3) La région qui se trouve sous le sommet et qui comprend les trois quarts de la longueur d'un hypocotyle se comporte différemment. D'abord, on constate une moindre résistance à la culture et spécialement dans le troisième quart.

Ensuite, l'épiderme des fragments ne porte guère de poils radicaux.

Enfin, il n'y a pas de croissance, ni de cals, à la coupure supérieure.

4) Le nombre des racines néoformées n'est pas le même dans les différents types de fragments. Une certaine proportionnalité apparaît entre la longueur des fragments et le nombre des racines. Plus les fragments sont petits, moins ils en forment (7,7 racines, en moyenne pour les fragments de 10 mm, 3,8 pour les fragments de 2 mm)-

5) Le rythme de l'apparition des racines sur l'hypocotyle n'est pas modifié par la fragmentation. Cependant, dans les fragments de 2 mm, les racines se montrent beaucoup plus rapidement.

6) La longueur moyenne des racines mesurée, en dehors de la région pseudo-méristématique du sommet, est, en général, d'autant plus grande qu'elles appartiennent à des fragments plus grands. Mais, dans la région pseudo-méristématique, les racines sont relativement longues, avec maximum dans les fragments de l'extrême sommet.

Il paraît évident que c'est le traumatisme, résultant de la fragmentation, qui déclenche, dans les tissus hypocotylaires, des réponses rhizogéniques qui ne se seraient pas produites sans lui.

Néanmoins, nous ne pensons pas que des racines puissent se produire en nombre considérable, s'il n'y a pas, par avance, dans les tissus, de quoi les produire.

Or, les fragments n'ont pas subi un traitement différent (hors la coupure) que les hypocotyles entiers.

La coupure impose donc aux tissus de révéler un potentiel rhizogénique qui, apparaissant dans tous les fragments, nous oblige à conclure qu'il est réparti tout le long de l'hypocotyle.

## CHAPITRE IV

### ETUDE DE LA NEOFORMATION RADICULAIRE DANS DES HYPOCOTYLES D'AGES DIFFERENTS, FRAGMENTES TOUS DE LA MEME MANIERE (FRAGMENTS DE 5 MM)

Nous avons recherché si le potentiel radiculaire réparti le long de l'hypocotyle, y est fixé de façon définitive, ou bien s'il est susceptible, soit de se déplacer, soit de se modifier, au cours de la croissance ou pendant la préparation des root-tests, par la technique de l'inanition.

A cet effet, nous avons étudié la réponse rhizogénique des fragments d'hypocotyles non inanitiés et inanitiés, découpés dans des organes se trouvant à des âges différents, c'est-à-dire ayant atteint des longueurs différentes au cours de leur croissance.

Nous avons décidé de découper les hypocotyles en fragments de 5 mm. Il eut été préférable de cultiver des fragments de 2 mm, qui révèlent plus complètement le potentiel radiculaire. Mais cette culture présenterait deux difficultés : elle exigerait un nombre très considérable de fragments (1.800) et elle ne permettrait pas la comparaison, qui est essentielle, avec les fragments d'hypocotyles inanitiés, qui se nécrosent rapidement.

Les fragments de 5 mm, inanitiés et non inanitiés se cultivent bien pendant trois mois et demi environ.

Le schéma (13), reconstitué d'après les documents du chapitre I, où la croissance de l'hypocotyle a été étudiée

à ses différents niveaux, nous renseigne sur l'évolution des zones de 5 mm délimitées dans un hypocotyle, au cours de la croissance de celui-ci.

Ceci nous permet de déterminer les fragments de 5 mm comparables dans les hypocotyles d'âges différents.

FIGURE 13. — Fragments comparables dans des hypocotyles d'âges différents.



Nous avons mis en germination des semis abondants de Balsamines, parmi lesquels, de moments en moments, nous avons prélevé des plantules se trouvant à des âges différents. Ces âges sont évalués par la longueur des hypocotyles au moment du prélèvement.

Nous avons ainsi constitué des séries de 10 hypocotyles de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 et 80 mm de long, exprimant les étapes de la croissance de ces organes.

Chacune de ces séries est double.

D'une part, ils sont préparés comme dans les expériences précédentes : suppression simultanée des cotylédons et des racines principales, et d'autre part, ils sont traités comme les root-tests. Les uns sont donc non inanitiés, les autres sont inanitiés.

Les hypocotyles de toutes ces séries sont découpés en fragments de 5 mm.

Nous avons donc respectivement, sur matériel non inanitié et inanitié :

|                 |       |                         |         |           |          |
|-----------------|-------|-------------------------|---------|-----------|----------|
| Séries 1 : A.10 | hypo. | non inanitiés de 10 mm, | donnant | 20 frag.  | de 5 mm. |
| B.10            | »     | inanitiés               | »       | 20        | »        |
| Séries 2 : A.10 | »     | non inanitiés de 20 mm, | »       | 40        | »        |
| B.10            | »     | inanitiés               | »       | 40        | »        |
| Séries 3 : A.10 | »     | non inanitiés de 30 mm, | »       | 60        | »        |
| B.10            | »     | inanitiés               | »       | 60        | »        |
| Séries 4 : A.10 | »     | non inanitiés de 40 mm, | »       | 80        | »        |
| B.10            | »     | inanitiés               | »       | 80        | »        |
| Séries 5 : A.10 | »     | non inanitiés de 50 mm, | »       | 100       | »        |
| B.10            | »     | inanitiés               | »       | 100       | »        |
| Séries 6 : A.10 | »     | non inanitiés de 60 mm, | »       | 120       | »        |
| B.10            | »     | inanitiés               | »       | 120       | »        |
| Séries 7 : A.10 | »     | non inanitiés de 70 mm, | »       | 140       | »        |
| B.10            | »     | inanitiés               | »       | 140       | »        |
| Séries 8 : A.10 | hypo. | non inanitiés de 80 mm, | donnant | 160 frag. | de 5 mm  |
| B.10            | hypo. | inanitiés               | »       | 160       | »        |

soit, au total 1440 fragments.

## RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

### A. — *Matériel non inanitié*

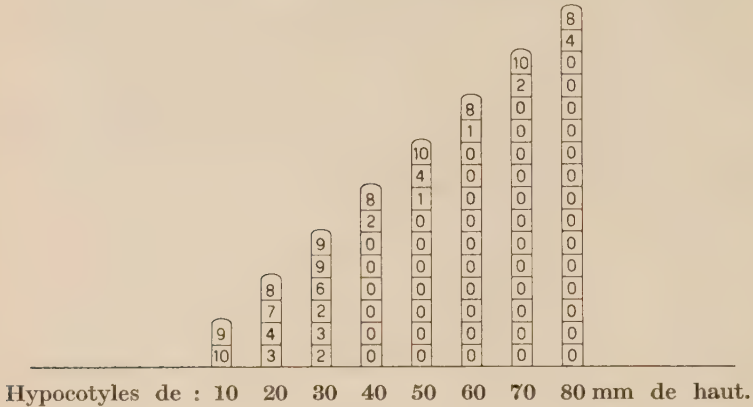
#### *Comportement des fragments découpés dans les hypocotyles non inanitiés de différents âges*

##### 1) *Poils radicaux*

Le schéma (14) donne la situation et le nombre total des fragments possédant ces formations de poils, dans chaque série de 10 hypocotyles.

Presque tous les fragments de sommet présentent des

SCHÉMA 14. — Position et nombre des fragments dont l'épiderme a formé des poils radicaux



poils radicaux, quel que soit l'âge de l'hypocotyle dont ils sont issus. Certains deuxièmes fragments en ont aussi dans toutes les séries; ces formations sont d'autant plus nombreuses que les fragments appartiennent à des hypocotyles plus jeunes.

Les fragments situés plus bas ont des poils dans les hypocotyles jeunes (de 10 à 30 mm) mais aucun dans les hypocotyles âgés (de 40 à 80 mm).

## 2) Allongement des fragments

Seuls, les fragments de sommet se sont allongés au cours de la culture.

L'allongement moyen, par fragment, a été respectivement de 6,6 — 2,6 — 3,3 — 2,6 — 2,8 — 2,2 — 2,4 et 2,3 mm, lorsque l'on passe d'un hypocotyle de 10 mm à un hypocotyle de 80 mm.

Le fragment de sommet des hypocotyles de 10 mm s'allonge considérablement et atteint plus du double de sa longueur primitive. La croissance du fragment de

sommet des hypocotyles de 20 mm est plus faible et elle est de plus en plus faible pour les fragments de sommet des hypocotyles progressivement âgés.

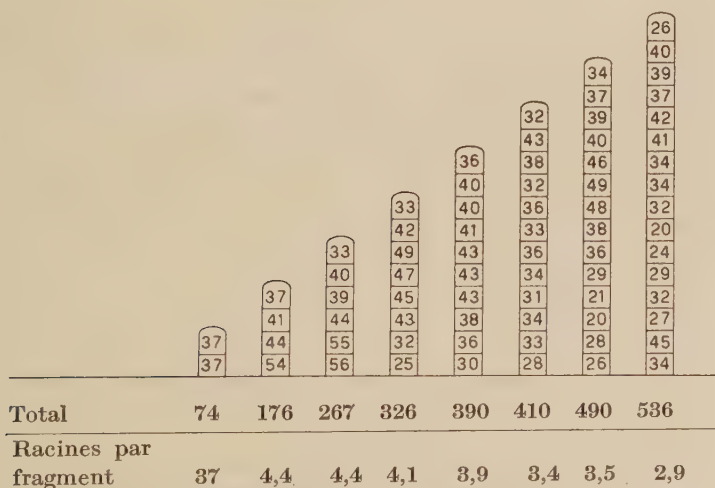
### 3) *Néoformation radiculaire*

La néoformation radiculaire dans les hypocotyles d'âges différents est décrite dans les schémas (15 A-B) qui donnent les nombres de racines apparues dans les divers fragments :

a) Après la période de forte apparition des racines (8 jours de culture).

b) A la fin de la culture (118 jours).

SCHEMA 15. — Nombre des racines apparues sur les divers fragments des hypocotyles non inanitiés de plus en plus âgés  
A. Après 8 jours



B. Après 118 jours

|                      |          |                       |                      |                      |                                              |                                                                |                                                                            |                                                                                              |
|----------------------|----------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
|                      | 82<br>57 | 100<br>81<br>70<br>86 | 70<br>74<br>69<br>88 | 81<br>73<br>75<br>50 | 80<br>76<br>74<br>73<br>68<br>78<br>70<br>66 | 63<br>82<br>70<br>67<br>60<br>64<br>62<br>60<br>61<br>62<br>70 | 68<br>77<br>79<br>80<br>81<br>81<br>73<br>58<br>68<br>58<br>51<br>47<br>59 | 56<br>79<br>76<br>69<br>73<br>67<br>57<br>62<br>57<br>42<br>40<br>42<br>48<br>53<br>72<br>62 |
| Total                | 139      | 337                   | 452                  | 530                  | 702                                          | 791                                                            | 939                                                                        | 951                                                                                          |
| Racines par fragment | 6,9      | 8,4                   | 7,5                  | 6,7                  | 7,0                                          | 6,6                                                            | 6,7                                                                        | 5,9                                                                                          |

A. — NÉOFORMATION DES RACINES APRÈS 8 JOURS

I. Le nombre moyen de racines par fragment, observées après 8 jours, dans les hypocotyles de plus en plus âgés, augmente tout d'abord sensiblement, jusqu'à ce que l'hypocotyle atteigne une hauteur de 20 mm. Il reste stationnaire pendant un très court moment (jusqu'à 30 mm), puis diminue lentement et progressivement pendant que l'hypocotyle grandit de 30 à 80 mm.

II. Tous les fragments ne se comportent pas de manière identique, non seulement selon le niveau où ils sont découpés, mais aussi selon l'âge de l'hypocotyle. Il est donc nécessaire de disséquer le comportement de ces divers fragments :

a) Le nombre des racines du fragment de sommet reste à peu près constant lorsque l'hypocotyle croît de 10 à 80 mm. Il diminue cependant légèrement avec l'âge du

pseudo-méristème. Il en est de même, en fin de culture, 110 jours après.

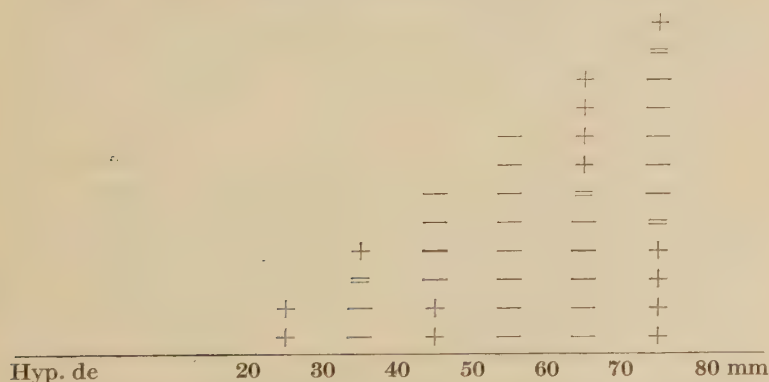
b) Dans les hypocotyles de 10 mm, les deux fragments ont le même nombre de racines,

c) Les fragments qui se trouvent sous le fragment de sommet des autres hypocotyles ont, après 8 jours, un nombre de racines supérieur à ce fragment.

d) En-dessous de cette région, vers la base, le nombre des racines varie selon certaines fluctuations que nous allons décrire.

Le nombre des racines apparues dans les fragments comparables augmente ou diminue, dans des hypocotyles d'âges différents, de façon très irrégulière. Par exemple, le potentiel du fragment de base augmente, puis diminue, puis augmente; diminue puis augmente, selon qu'il appartient à des hypocotyles de plus en plus âgés. (voir schéma 16).

SCHÉMA 16. — Sens de la variation du nombre des racines apparues, après 8 jours, sur les fragments comparables des hypocotyles de plus en plus âgés, ayant respectivement de 20 à 80 mm.



Les fluctuations apparaissent beaucoup plus précises

et régulières, si on les considère dans l'ensemble des fragments d'un même hypocotyle.

Lorsque l'on passe des fragments d'un hypocotyle d'un âge déterminé aux fragments d'un hypocotyle plus âgé, le nombre des racines apparues sur les fragments comparables ne se modifie plus de manière irrégulière. Par exemple, lorsque l'on compare les fragments d'un hypocotyle de 50 mm à ceux d'un hypocotyle de 60 mm, le potentiel radiculaire révélé dans tous les fragments comparables diminue.

Lorsque l'on compare les fragments d'un hypocotyle de 60 mm à ceux d'un hypocotyle de 70 mm, le nombre des racines de tous les fragments de la moitié supérieure de l'hypocotyle augmente, le nombre des racines de tous les fragments de la moitié inférieure diminue. Entre ces deux variations opposées, le fragment intermédiaire conserve un nombre constant de racines néoformées.

Partout, les variations du nombre des racines néoformées (augmentation ou diminution) intéressent, non pas des fragments isolés, mais des groupes de fragments successifs, c'est-à-dire des zones d'hypocotyle, sauf la région entre ces zones, qui n'est souvent que d'un seul fragment et qui, nous insistons sur ce fait, ne modifie pas sa réponse rhizogénique.

Tout se passe donc comme si, au cours de la croissance de l'hypocotyle, un facteur rhizogénique circulait par flux successifs, le long de l'hypocotyle. Suivant le déplacement de ces flux dans l'hypocotyle, au moment de la fragmentation, certaines zones de l'hypocotyle présenteraient un potentiel radiculaire plus ou moins élevé. Nous aurions ainsi rencontré la translocation d'un facteur mobile de la rhizogenèse, peut-être comparable à celui

qui a été mis en évidence, en d'autres circonstances, par BOUILLENNE (1947) et autres.

## B. — NÉOFORMATION DES RACINES APRÈS 118 JOURS

Entre le 8<sup>me</sup> jour et la fin de la culture, des racines nouvelles sont apparues sur tous les fragments. Le tableau (23) résume cette augmentation du potentiel révélé. Il donne :

- 1) L'augmentation du nombre total des racines pour tous les fragments des différentes séries (par hypocotyle),
- 2) L'augmentation du nombre des racines due au fragment de sommet (moyenne sur 10),
- 3) L'augmentation due aux autres fragments (moyenne sur 10, pour chaque fragment).

TABLEAU 23. — *Augmentation du nombre des racines entre le 8<sup>me</sup> jour et la fin de l'expérience*

| Hypocotyles de | Augmentation totale par hypocotyle | Augmentation moyenne du frag, sommet | Augmentation moyenne autres frag. |
|----------------|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| 10 mm          | 6,5                                | 4,5                                  | 2,0                               |
| 20 mm          | 16,1                               | 6,3                                  | 3,3                               |
| 30 mm          | 18,5                               | 3,7                                  | 3,0                               |
| 40 mm          | 20,4                               | 4,8                                  | 2,2                               |
| 50 mm          | 31,2                               | 4,4                                  | 3,0                               |
| 60 mm          | 38,1                               | 3,1                                  | 3,2                               |
| 70 mm          | 44,9                               | 3,4                                  | 3,2                               |
| 80 mm          | 41,5                               | 3,0                                  | 2,7                               |

Le fragment de sommet a augmenté le plus considérablement le nombre de ses racines. Cette augmentation

n'a pas la même valeur dans les fragments de sommet des hypocotyles d'âges différents. Elle est plus importante dans l'hypocotyle de 20 mm que dans celui de 10 mm elle diminue ensuite de façon continue pour les hypocotyles de plus en plus âgés.

Les observations décrites en détails après 8 jours de culture restent valables à la fin de la culture, en ce qui concerne le nombre moyen de racines par fragment et le nombre total de racines par hypocotyle et les fluctuations du nombre des racines dans les fragments comparables des hypocotyles de plus en plus âgés.

### *Rythme d'apparition des racines néoformées*

Quel que soit l'âge de l'hypocotyle, on peut distinguer trois périodes dans l'apparition des racines néoformées sur les divers fragments :

a) une première période, de 2 à 3 jours, pendant laquelle les primordiums se forment à l'intérieur des tissus mais où les racines ne sont pas encore visibles extérieurement,

b) une deuxième période, s'étendant jusqu'au 8<sup>me</sup> jour environ, pendant laquelle les racines néoformées apparaissent brusquement en très grand nombre, partout à la fois,

c) une troisième période, s'étendant jusqu'à la fin de l'expérience, pendant laquelle les racines n'apparaissent plus que sporadiquement et en nombre fort limité.

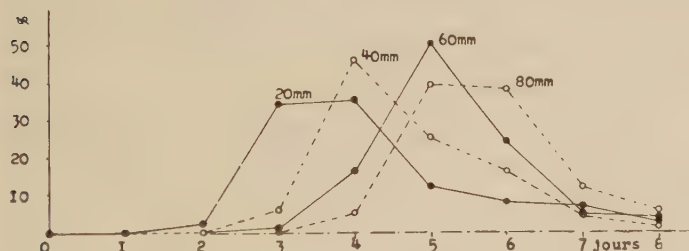
Il nous paraît spécialement intéressant de préciser que, la deuxième période est d'autant plus précoce et atteint son maximum d'autant plus rapidement que les fragments sont découpés dans un hypocotyle plus jeune. C'est ce que

montre le diagramme (17), qui donne, pour tous les fragments des hypocotyles de 20, 40, 60 et 80 mm, le nombre de racines nouvelles apparues, chaque jour, par rapport au nombre total des racines révélées, dans ces mêmes hypocotyles, après 8 jours de culture, ce nombre étant amené à 100.

On voit que ce maximum se situe :  
entre le 3<sup>me</sup> et le 4<sup>me</sup> jour, dans les hypocotyles de 20 mm,  
au 4<sup>me</sup> jour, dans les hypocotyles de 40 mm,  
au 5<sup>me</sup> jour, dans les hypocotyles de 60 mm,  
entre le 5<sup>me</sup> et le 6<sup>me</sup> jour, dans les hypocotyles de 80 mm.

Nous signalerons enfin que, quand on considère chaque

DIAGRAMME 17. — Rythme d'apparition des racines, dans les hypocotyles d'âges différents.



fragment en particulier, on constate que la vitesse d'apparition des racines est particulièrement grande dans les fragments de sommet des hypocotyles de 20, 40 et 70 mm, qui, par ailleurs, ont aussi révélé, par le nombre de leurs racines néoformées, le potentiel rhizogénique le plus important.

### *Longueur des racines*

La longueur des racines apparues sur les fragments découpés aux divers niveaux des hypocotyles non inani-

tiés nous montre un fait notable et nettement marqué (voir tableau 18, page 99).

1. La longueur moyenne des racines apparues sur les fragments montre que les 2 ou 3 fragments de sommet ont des racines très longues, tandis que les fragments de base ont des racines relativement courtes. Cette observation nous paraît intéressante puisque les hypocotyles non fragmentés se comportent, à ce point de vue, de manière toute différente. C'est-à-dire que ce sont les régions de base qui ont les plus longues racines et les régions de sommet qui ont les plus courtes. Dans les hypocotyles entiers, les régions basilaires peuvent probablement profiter d'un appoint divers de matériaux mobiles venant de tous les niveaux supérieurs.

2. Les fragments de sommet manifestent entre eux un gradient extrêmement marqué, à l'avantage du fragment de sommet lui-même.

3. Les longueurs moyennes et totales des racines apparues sur les fragments de sommet présentent des fluctuations, quand on considère les hypocotyles de plus en plus âgés. Dans les longueurs obtenues à la fin de la culture (après 118 jours), nous voyons que les fragments de sommet découpés sur les hypocotyles jeunes (10 mm) font des racines plus courtes que les fragments découpés sur des hypocotyles un peu plus âgés (20 mm). Les hypocotyles plus âgés encore ont des racines plus courtes que ceux qui les précèdent et que ceux qui les suivent (40 mm). C'est ainsi que nous distinguons, dans les hypocotyles des périodes, au cours desquelles ils donnent aux fragments que l'on y découpe des potentialités différentes quant à la longueur des racines.

Dans le cadre de notre expérience, il y a trois étapes

TABLEAU 18. — *Longueur totale des racines apparues sur les divers fragments des hypocotyles non inanitiés (longueur totale en mm, pour 10 fragments semblables)*

|           |     |      |     |      |      |     |      |      |
|-----------|-----|------|-----|------|------|-----|------|------|
|           |     |      |     |      |      |     | 214  |      |
|           |     |      |     |      |      |     | 107  |      |
|           |     |      |     |      |      | 389 | 77   |      |
|           |     |      |     |      |      | 223 | 57   |      |
|           |     |      |     |      | 235  | 129 | 57   |      |
|           |     |      |     |      | 123  | 97  | 44   |      |
|           |     |      |     | 356  | 55   | 69  | 40   |      |
|           |     |      |     | 164  | 47   | 55  | 53   |      |
|           |     |      | 379 | 101  | 62   | 60  | 43   |      |
|           |     |      | 197 | 71   | 59   | 93  | 26   |      |
|           |     | 222  | 121 | 92   | 53   | 91  | 24   |      |
|           |     | 130  | 130 | 95   | 55   | 53  | 30   |      |
|           | 697 | 88   | 135 | 84   | 50   | 46  | 26   |      |
|           | 320 | 84   | 105 | 78   | 67   | 37  | 30   |      |
| 298       | 227 | 79   | 86  | 89   | 54   | 38  | 56   |      |
| 205       | 251 | 130  | 60  | 85   | 85   | 52  | 42   |      |
| LgT/hypo. | 503 | 1495 | 733 | 1210 | 1212 | 944 | 1428 | 926  |
| LgT/frag. | 252 | 398  | 122 | 151  | 121  | 178 | 102  | 58   |
| Hypo de : | 10  | 20   | 30  | 40   | 50   | 60  | 70   | 80mm |

TABLEAU 18. — *Longueur moyenne des racines apparues sur les divers fragments des hypocotyles non inanitiés (longueur moyenne par fragment, en mm)*

|         |     |     |     |     |     |     |     |       |
|---------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
|         |     |     |     |     |     |     | 2,8 |       |
|         |     |     |     |     |     |     | 1,2 |       |
|         |     |     |     |     |     | 5,8 | 0,9 |       |
|         |     |     |     |     |     | 3,0 | 0,8 |       |
|         |     |     |     |     | 3,7 | 1,6 | 0,7 |       |
|         |     |     |     |     | 1,5 | 1,2 | 0,6 |       |
|         |     |     |     | 4,4 | 0,8 | 0,9 | 0,6 |       |
|         |     |     |     | 2,1 | 0,7 | 0,7 | 0,8 |       |
|         |     |     | 4,6 | 1,4 | 1,0 | 0,8 | 0,9 |       |
|         |     |     | 2,7 | 0,9 | 0,9 | 1,6 | 0,6 |       |
|         |     | 3,1 | 1,7 | 1,3 | 0,9 | 1,3 | 0,5 |       |
|         |     | 1,7 | 1,8 | 1,2 | 0,9 | 0,9 | 0,6 |       |
|         | 6,9 | 1,2 | 2,0 | 1,1 | 0,8 | 0,9 | 0,5 |       |
|         | 3,9 | 1,2 | 1,7 | 1,2 | 1,0 | 0,8 | 0,5 |       |
| 3,6     | 3,2 | 0,9 | 1,5 | 1,2 | 0,8 | 0,6 | 0,7 |       |
| 3,6     | 2,9 | 1,4 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 0,9 | 0,6 |       |
| Lg/hypo | 3,6 | 4,4 | 1,6 | 2,2 | 1,7 | 1,2 | 1,5 | 0,9   |
| Hypo de | 10  | 20  | 30  | 40  | 50  | 60  | 70  | 80 mm |

de croissance hypocotylaïre conférant aux fragments de sommet une capacité importante d'allongement radiculaire et cinq autres étapes où cette capacité est inférieure. Dans l'ensemble, les maximums de longueur et les minimums de longueur vont en diminuant avec l'âge.

Ces étapes concernant la longueur des racines correspondent aux mêmes étapes que nous avons distinguées dans le potentiel radiculaire lui-même et dans la vitesse d'apparition des racines néoformées (voir tableau 15).

Dans ces conditions, il nous paraît possible d'expliquer ces fluctuations par l'état physiologique dans lequel se trouve, au moment de la fragmentation, le pseudo-méristème de l'hypocotyle. Il semble pouvoir disposer, à certains moments de matériaux dont il ne dispose plus en aussi grande quantité un peu plus tard. Cette sorte de rythme faisant intervenir à la fois des matériaux nécessaires à la formation des racines et à leur croissance doit, selon nous, être lié à une circulation se réalisant avant la fragmentation. Celle-ci nous apporte, en quelque sorte, un instantané de l'état de l'hypocotyle à chaque étape de la croissance de celui-ci et isole les potentialités qui caractérisent les divers niveaux. Elle ne permet pas à ces niveaux de s'enrichir au cours d'une mise en culture, aux dépens des régions supérieures comme c'est le cas dans les expériences avec hypocotyles non fragmentés.

#### B. — *Matériel inanitié*

Parallèlement aux cultures des fragments de 5 mm, pris sur des hypocotyles de plantules d'âges différents, que nous venons de décrire, nous effectuerons maintenant

des cultures de fragments de 5 mm pris sur des hypocotyles de longueurs correspondantes, ayant subi une inanition d'une durée de 8 jours avant d'être fragmentés.

Au cours de l'inanition, les hypocotyles continuent à grandir. Cette croissance est due exclusivement aux activités pseudoméristématiques de leur sommet. Il en résulte que ce matériel inanitié ne se trouve pas, au point de vue de la longueur, dans le même état que le matériel non inanitié utilisé précédemment (préparé par amputation des cotylédons et des racines principales, au moment même de la mise en expérience). En d'autres termes, nous allons devoir comparer des hypocotyles inanitiés et non inanitiés qui se correspondent pour les régions de base mais qui nécessitent, pour les fragments de sommet, un repérage attentif.

Pendant la culture, les fragments découpés dans les hypocotyles n'ont pas manifesté de croissance. Le fragment de sommet a probablement poussé légèrement. Les différents fragments de sommet, découpés dans les hypocotyles d'âges différents, ont atteint, en fin d'expérience, les dimensions que voici :

|           |                        |          |
|-----------|------------------------|----------|
| série 1 : | hypocotyles de 10 mm : | 10,0 mm, |
| » 2 :     | » 20 mm :              | 9,9 mm,  |
| » 3 :     | » 30 mm :              | 11,5 mm, |
| » 4 :     | » 40 mm :              | 13,5 mm, |
| » 5 :     | » 50 mm :              | 7,1 mm,  |
| » 6 :     | » 60 mm :              | 7,1 mm,  |
| » 7 :     | » 70 mm :              | 7,2 mm,  |
| » 8 :     | » 80 mm :              | 7,2 mm.  |

La croissance des hypocotyles a donc été particulièrement forte pour les plus jeunes (de 10 à 40 mm). Les hypo-

cotyles plus âgés (de 50 à 80 mm) ont réalisé une croissance nettement plus faible. Celle-ci a la même valeur pour les quatre dernières séries.

A la fin de la culture, 85 des 720 fragments, soit seulement 11 %, se sont nécrosés. Cette nécrose apparaissant presque toujours très tôt, et, à la fois, dans tous les fragments d'un même hypocotyle, est, par conséquent, due à l'état déficient de certains hypocotyles au début de la culture et non à la culture elle-même. C'est pourquoi nous n'en avons pas tenu compte dans l'exposé des résultats.

### *Néoformation racinaire*

Tous les fragments inanitiés ont manifesté une certaine néoformation racinaire. Le tableau (24) donne le nombre des racines dénombrées sur chacun des fragments, en fin de culture (118 jours).

Quel que soit l'âge d'un hypocotyle, c'est son fragment de sommet qui présente toujours le nombre de racines le plus considérable. Le nombre des racines du fragment de sommet des hypocotyles de 20 mm est exceptionnellement bas (5,4). Il est cependant plus élevé que celui des autres fragments de cet hypocotyle.

Dans les autres séries, on voit une diminution progressive du nombre des racines dans le fragment de sommet, lorsque l'hypocotyle grandit de 10 à 60 mm (minimum 6,1) puis une augmentation, lorsqu'il passe de 60 à 80 mm.

Le nombre des racines n'est pas le même dans tous les fragments d'un hypocotyle d'âge déterminé; il varie selon la position de chacun des fragments dans l'hypocotyle.

TABLEAU 24. — *Nombre des racines néoformées, en fin de culture, sur les divers fragments d'hypocotyles inanitiés de plus en plus âgés (par groupes de 10 fragments semblables)*

|           |      |      |      |      |      |      |      |       |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
|           |      |      |      |      |      |      | 79   |       |
|           |      |      |      |      |      |      | 53   |       |
|           |      |      |      |      |      | 76   | 41   |       |
|           |      |      |      |      |      | 56   | 37   |       |
|           |      |      |      |      | 61   | 46   | 23   |       |
|           |      |      |      |      | 45   | 38   | 25   |       |
|           |      |      |      | 66   | 41   | 38   | 32   |       |
|           |      |      |      | 35   | 31   | 49   | 26   |       |
|           |      |      | 82   | 33   | 25   | 45   | 22   |       |
|           |      |      | 32   | 35   | 25   | 42   | 20   |       |
|           |      | 89   | 35   | 28   | 25   | 34   | 18   |       |
|           |      | 44   | 34   | 39   | 25   | 33   | 20   |       |
|           | 54   | 29   | 30   | 41   | 34   | 29   | 22   |       |
|           | 36   | 26   | 25   | 38   | 30   | 31   | 29   |       |
| 103       | 25   | 22   | 19   | 50   | 40   | 32   | 33   |       |
| 25        | 29   | 32   | 23   | 59   | 53   | 34   | 42   |       |
| <hr/>     |      |      |      |      |      |      |      |       |
| Par. hyp. | 12,8 | 14,4 | 24,2 | 28,0 | 42,4 | 43,5 | 58,3 | 52,2  |
| <hr/>     |      |      |      |      |      |      |      |       |
| Hypo de   | 10   | 20   | 30   | 40   | 50   | 60   | 70   | 80 mm |

De façon très générale, le fragment de sommet révèle le plus grand nombre de racines. Ce nombre de racines par fragment diminue progressivement dans les fragments situés de plus en plus bas, dans l'hypocotyle, jusqu'à atteindre une valeur minimum de 2,5 racines par fragment qui est relativement constante, quelle que soit l'étape de croissance de l'hypocotyle et qui est située :

à la base des hypocotyles de 10 mm,

à l'avant-dernier fragment (de base) des hypocotyles de 20, 30 et 40 mm,

au milieu des hypocotyles de 50 et 60 mm,

au tiers inférieur des hypocotyles de 70 et 80 mm.

A partir de ce minimum, le nombre des racines par fragment augmente régulièrement jusqu'au fragment de

base. Le nombre de racines apparues dans le fragment de base est cependant toujours moins élevé que dans le fragment de sommet.

La somme des racines apparues, en fin de culture, sur l'ensemble des fragments d'un même hypocotyle est respectivement de :

|      |         |      |    |            |    |    |     |
|------|---------|------|----|------------|----|----|-----|
| 12,8 | racines | pour | un | hypocotyle | de | 10 | mm, |
| 14,4 | »       | »    | »  | »          | »  | 20 | mm, |
| 24,2 | »       | »    | »  | »          | »  | 30 | mm, |
| 28,0 | »       | »    | »  | »          | »  | 40 | mm, |
| 42,4 | »       | »    | »  | »          | »  | 50 | mm, |
| 43,5 | »       | »    | »  | »          | »  | 60 | mm, |
| 58,3 | »       | »    | »  | »          | »  | 70 | mm, |
| 52,2 | »       | »    | »  | »          | »  | 80 | mm. |

C'est ce qu'indique aussi le diagramme (19).

Le nombre des racines néoformées sur l'ensemble des fragments de 5 mm d'un hypocotyle inanitié est d'autant plus élevé que l'hypocotyle est plus long. La courbe A du diagramme indique que cette augmentation, sujette à certaines fluctuations selon les étapes de croissance des hypocotyles est, en moyenne, de 7 racines nouvelles par 10 mm d'hypocotyle.

Le nombre moyen de racines par fragment est respectivement de (20) :

|     |         |      |     |             |    |    |     |
|-----|---------|------|-----|-------------|----|----|-----|
| 6,4 | racines | pour | les | hypocotyles | de | 10 | mm, |
| 3,6 | »       | »    | »   | »           | »  | 20 | mm, |
| 4,0 | »       | »    | »   | »           | »  | 30 | mm, |
| 3,5 | »       | »    | »   | »           | »  | 40 | mm, |
| 4,2 | »       | »    | »   | »           | »  | 50 | mm, |
| 3,6 | »       | »    | »   | »           | »  | 60 | mm, |
| 4,1 | »       | »    | »   | »           | »  | 70 | mm, |
| 3,2 | »       | »    | »   | »           | »  | 80 | mm. |

DIAGRAMME 19. — Somme des racines apparues, en fin de culture, sur l'ensemble des fragments des hypocotyles d'âges différents

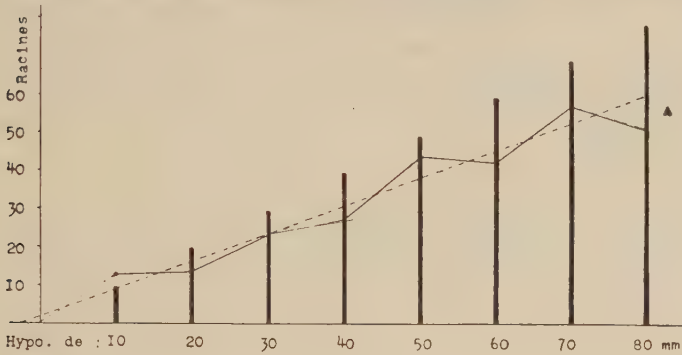
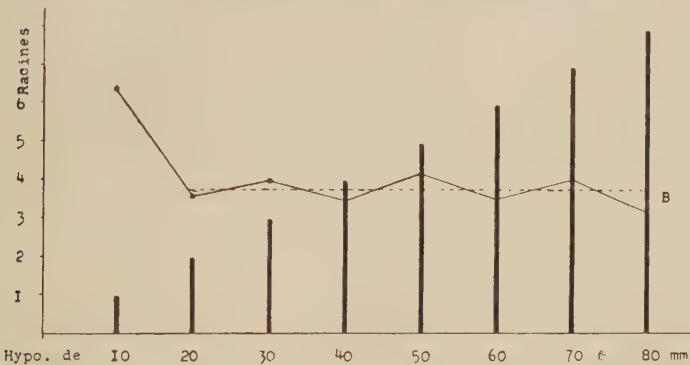


DIAGRAMME 20. — Nombre moyen, par fragment, des racines apparues, en fin de culture, sur les hypocotyles d'âges différents



Le potentiel radiculaire global, par hypocotyle inanitié, semble donc indépendant de l'âge (et de la longueur) de l'hypocotyle. Le potentiel très élevé (6,4) des hypocotyles de 10 mm s'explique par le fait qu'il est exprimé seulement par deux fragments et que, dans ces conditions, le potentiel du fragment de sommet relève considérablement la moyenne. Compte non tenu du fragment de sommet, dont le potentiel diffère très fortement des autres frag-



augmentation, diminution, ou bien, au contraire, il garde la même valeur.

Quand on considère les fluctuations que subit le potentiel des différents fragments d'un hypocotyle lorsque celui-ci grandit de 10 en 10 mm, on voit que ces fluctuations sont de même sens (augmentation ou diminution) pour toute une zone de fragments et que, généralement, entre ces zones où les fluctuations sont de sens contraire, il existe une courte région intermédiaire où le potentiel n'a pas varié.

### *Rythme d'apparition des racines néoformées*

Nous n'avons pu donner, avec la même précision que pour le matériel non inanitié, le rythme d'apparition des racines néoformées sur les fragments inanitiés. Ceci est dû au grand nombre des manipulations exigées pendant la culture de ces centaines de fragments. Il n'était pas possible, à certains moments, de faire, pour tous les fragments, des observations journalières.

Nous pouvons cependant préciser qu'il existe aussi 3 périodes pour le matériel inanitié : une période d'attente de 2 ou 3 jours, une période de brusque apparition des racines, généralement située du 3<sup>me</sup> au 9<sup>me</sup> jour, puis une période d'apparition sporadique de racines très peu nombreuses.

### *Longueur des racines néoformées*

La longueur totale et la longueur moyenne des racines apparues sur les divers fragments des hypocotyles inanitiés de chaque série sont décrites dans les tableaux(25-26).

TABLEAU 25. — *Longueur totale des racines apparues sur les divers fragments des hypocotyles d'âges différents* (en mm, par groupe de 10 fragments semblables), *inanitiés*

|            |     |     |     |     |     |     |      |       |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-------|
|            |     |     |     |     |     |     | 363  |       |
|            |     |     |     |     |     |     | 91   |       |
|            |     |     |     |     |     | 456 | 38   |       |
|            |     |     |     |     |     | 80  | 17   |       |
|            |     |     |     |     | 333 | 50  | 13   |       |
|            |     |     |     |     | 39  | 47  | 11   |       |
|            |     |     |     | 375 | 42  | 36  | 18   |       |
|            |     |     |     | 91  | 15  | 47  | 34   |       |
|            |     |     | 364 | 35  | 13  | 60  | 32   |       |
|            |     |     | 61  | 24  | 13  | 68  | 20   |       |
|            |     | 498 | 42  | 21  | 17  | 29  | 9    |       |
|            |     | 163 | 60  | 41  | 10  | 20  | 13   |       |
|            | 466 | 70  | 31  | 45  | 14  | 26  | 19   |       |
|            | 167 | 36  | 25  | 36  | 30  | 36  | 29   |       |
| 581        | 109 | 43  | 32  | 53  | 37  | 28  | 42   |       |
| 110        | 108 | 100 | 45  | 83  | 90  | 51  | 59   |       |
| Lg/hypo :  | 691 | 850 | 910 | 660 | 804 | 653 | 1034 | 808mm |
| Lg/frag. : | 346 | 212 | 152 | 82  | 80  | 54  | 73   | 50mm  |
| Hypo de :  | 10  | 20  | 30  | 40  | 50  | 60  | 70   | 80mm  |

TABLEAU 26. — *Longueur moyenne des racines apparues sur les divers fragments des hypocotyles inanitiés d'âges différents* (en mm par fragment, moyenne sur 10)

|           |     |     |     |     |     |     |     |       |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
|           |     |     |     |     |     |     | 5,8 |       |
|           |     |     |     |     |     |     | 1,8 |       |
|           |     |     |     |     |     | 6,2 | 1,0 |       |
|           |     |     |     |     |     | 1,6 | 0,5 |       |
|           |     |     |     |     | 5,9 | 1,1 | 0,6 |       |
|           |     |     |     |     | 1,0 | 1,2 | 0,4 |       |
|           |     |     |     | 5,8 | 1,2 | 1,0 | 0,6 |       |
|           |     |     |     | 2,6 | 0,5 | 1,0 | 1,3 |       |
|           |     |     | 4,8 | 1,1 | 0,6 | 1,3 | 1,5 |       |
|           |     |     | 2,1 | 0,7 | 0,6 | 1,7 | 1,1 |       |
|           |     | 6,0 | 1,2 | 0,9 | 0,8 | 0,9 | 0,6 |       |
|           |     | 4,0 | 1,7 | 1,2 | 0,5 | 0,6 | 0,7 |       |
|           | 8,6 | 2,4 | 1,0 | 1,2 | 0,5 | 0,9 | 0,9 |       |
|           | 4,7 | 1,4 | 1,0 | 1,0 | 1,2 | 1,1 | 1,1 |       |
| 5,5       | 4,0 | 2,0 | 1,7 | 1,0 | 1,0 | 0,9 | 1,3 |       |
| 4,0       | 3,9 | 3,0 | 1,9 | 1,4 | 1,7 | 1,5 | 1,5 |       |
| Lg/hypo : | 5,4 | 5,9 | 3,6 | 2,4 | 2,0 | 1,6 | 1,8 | 1,6   |
| Hypo de : | 10  | 20  | 30  | 40  | 50  | 60  | 70  | 80 mm |

Quel que soit l'âge de l'hypocotyle considéré, les racines de son fragment de sommet sont beaucoup plus longues que celles des fragments qui lui sont inférieurs. Cette différence est particulièrement brusque; elle se réalise au niveau du 2<sup>me</sup> fragment. A partir du 3<sup>me</sup> ou du 4<sup>me</sup> fragment, la longueur des racines atteint un minimum qui se retrouve dans les fragments suivants également. Partout, les fragments de base de l'hypocotyle portent des racines légèrement plus longues.

Dans les hypocotyles de plus en plus âgés, la longueur moyenne des racines par hypocotyle diminue régulièrement. Cependant, dans le fragment de sommet, la longueur moyenne des racines oscille autour d'une valeur constante (5,8 mm). Dans les hypocotyles de 20 mm, cette valeur est pourtant nettement plus grande (8,6 mm) et dans les hypocotyles de 40 mm, elle est plus petite (4,8 mm).

#### C. — COMPARAISON MATÉRIEL NON INANITIÉ, MATÉRIEL INANITIÉ

En général, le matériel inanitié manifeste une néoformation radiculaire moins abondante que le matériel non inanitié. Les modifications dues à l'inanition, dans le potentiel radiculaire, sont formulées, en détails, dans le tableau (27).

L'inanition diminue le nombre des racines apparues par hypocotyle. Cette diminution est :

très faible, dans les hypocotyles de 10 mm (moins de 1 racine, en moyenne par fragment),

TABLEAU 27. — *Différence du nombre des racines néoformées dans les fragments non inanitiés et inanitiés (par groupe de 10 fragments semblables)*

|                   |       |       |       |       |       |       |             |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
|                   |       |       |       |       |       |       | + 24        |
|                   |       |       |       |       |       |       | — 26        |
|                   |       |       |       |       |       | + 8   | — 34        |
|                   |       |       |       |       |       | — 21  | — 32        |
|                   |       |       |       |       | — 2   | — 33  | — 50        |
|                   |       |       |       |       | — 37  | — 42  | — 41        |
|                   |       |       |       | — 14  | — 29  | — 43  | — 24        |
|                   |       |       |       | — 41  | — 36  | — 32  | — 36        |
|                   |       | + 1   | — 39  | — 35  | — 28  | — 34  |             |
|                   |       | — 41  | — 38  | — 39  | — 16  | — 22  |             |
|                   | + 19  | — 40  | 40    | — 37  | — 34  | — 22  |             |
|                   | — 30  | — 37  | — 39  | — 35  | — 25  | — 22  |             |
|                   | — 46  | — 40  | — 36  | — 29  | — 37  | — 22  | — 25        |
|                   | — 45  | — 43  | — 37  | — 24  | — 32  | — 16  | — 24        |
| + 21              | — 45  | — 60  | — 33  | — 21  | — 30  | — 27  | — 39        |
| — 32              | — 57  | — 56  | — 27  | — 7   | — 17  | — 25  | — 20        |
| <hr/>             |       |       |       |       |       |       |             |
| Diff. totale      | — 11  | — 193 | — 210 | — 250 | — 292 | — 356 | — 356 — 427 |
| <hr/>             |       |       |       |       |       |       |             |
| Difffrag /m.      | — 0,5 | — 4,8 | — 3,5 | — 3,1 | — 2,9 | — 2,9 | — 2,5 — 2,7 |
| <hr/>             |       |       |       |       |       |       |             |
| Hypocotyles de 10 | 20    | 30    | 40    | 50    | 60    | 70    | 80 mm       |

très forte, dans les hypocotyles de 20 mm (près de 5 racines, en moyenne par fragment),

de moins en moins forte, lorsque l'on passe des hypocotyles de 20 mm aux hypocotyles de 80 mm.

Dans chaque fragment des hypocotyles, l'inanition n'agit pas de façon semblable sur le nombre des racines :

a) dans les fragments de sommet, les modifications varient considérablement selon l'âge de l'hypocotyle; il y a une augmentation dans les fragments de sommet des hypocotyles de 10, 30, 70 et 80 mm. Elle est maximum dans les hypocotyles de 80 mm, qui, non inanitiés, présentent le plus petit nombre de racines; il y a une diminu-

tion sensible dans les fragments de sommet des hypocotyles de 20 et 50 mm. Elle est maximum dans les hypocotyles de 20 mm, qui, non inanitiés, présentent le plus grand nombre de racines; il n'y a aucune modification importante dans les hypocotyles de 40 et 60 mm.

b) Tous les deuxièmes fragments des hypocotyles d'âges différents subissent une forte diminution dans le nombre de leurs racines. Cette diminution est encore un peu plus accentuée pour les 4 ou 5 fragments suivants.

Dans les hypocotyles qui ont plus de 6 fragments (de 40 à 80 mm), la diminution du nombre des racines dans les fragments de la région inférieure est, généralement, moins importante que celles des fragments de la région supérieure de l'hypocotyle.

En général, l'inanition atteint fortement (par une diminution) les fragments du milieu de l'hypocotyle qui possèdent, à l'état non inanitié, un potentiel radiculaire important. Les fragments de base, en général, semblent moins atteints par l'inanition.

Nous avons vu que, après l'inanition, le nombre des racines apparues dans des régions comparables d'hypocotyles de plus en plus âgés subit des fluctuations. Il augmente ou diminue selon l'âge de l'hypocotyle. Quand on compare ces fluctuations à celles qui ont été décrites dans les mêmes fragments non inanitiés (voir tableaux 15 et 24), on constate qu'à une seule exception près (fragments de base, hypocotyles de 50 et 60 mm), toutes les fluctuations sont de même sens. Aux zones qui indiquaient, dans les hypocotyles non inanitiés, un fléchissement du potentiel radiculaire pendant une certaine période de croissance, correspond, dans les hypocotyles inanitiés, une fluctuation,

de même sens pendant la même période de croissance. L'inanition ne fait donc pas disparaître les fluctuations.

Dans ces conditions, nous devons conclure qu'une inanition de 8 jours n'élimine pas entièrement les facteurs rhizogéniques mobiles auxquels nous avons attribué les fluctuations de potentiel dans le matériel non inanitié.

Le potentiel minimum par fragment (2,5 racines) est assez constant, quel que soit l'âge de l'hypocotyle. La constance dans la valeur de ce minimum nous suggère que nous avons atteint, par l'inanition, dans ces fragments, un potentiel minimum incapable d'être éliminé et, par conséquent, fixé dans les tissus.

L'action la plus remarquable de l'inanition est l'augmentation du nombre des racines dans le fragment de sommet de certains hypocotyles. Cette augmentation ne peut venir que d'une redistribution des facteurs rhizogéniques se trouvant dans l'hypocotyle, au début de l'inanition.

### *Rythme d'apparition des racines néoformées*

La comparaison du rythme de la néoformation racinaire dans le matériel inanitié et non inanité montre, dans son ensemble, trois grandes périodes : période de latence de 2 à 3 jours, période de brusque apparition des racines, jusqu'au 8<sup>me</sup> ou au 9<sup>me</sup> jour, période d'apparition sporadique et ralentie jusqu'à la fin de la culture.

Un point intéressant nous paraît devoir être noté. Au 9<sup>me</sup> jour, dans les séries non inanitiées, 56 % des racines apparues en fin d'expérience, sont visibles; dans les séries inanitiées, il y en a seulement 37 %. On peut donc dire que les racines sont apparues nettement plus

vite dans les séries non inanitiées que dans les séries inanitiées. Nous excepterons cependant les racines apparues sur les fragments des hypocotyles les plus jeunes, en particulier sur ceux de 10 mm, où la vitesse a été sensiblement égale, dans les deux cas.

### *Longueur des racines*

Pour pouvoir comparer les longueurs totales et moyennes des racines apparues sur les fragments des hypocotyles inanitiés et non inanitiés, les tableaux 28 et 29 donnent, pour chaque fragment, la différence de longueur.

Quel que soit l'âge de l'hypocotyle inanitié, la longueur totale des racines apparues sur tous ses fragments est nettement inférieure à la longueur totale des racines apparues sur les fragments d'un hypocotyle identique non inanitié. Seuls, les hypocotyles de 10 et 30 mm révèlent une longueur totale plus considérable.

Examinant la réponse des fragments pris individuellement, ceux des hypocotyles inanitiés représentent une longueur totale de racines nettement plus faible que celles des hypocotyles non inanitiés. Il y a cependant deux grandes exceptions :

a) dans les fragments de sommet inanitiés, la longueur totale des racines est presque partout plus forte que celle des fragments non inanitiés. Cependant, le fragment de sommet de l'hypocotyle de 20 mm diminue fortement cette longueur et celui de l'hypocotyle de 40 mm présente lui aussi une longueur de racines plus faible.

b) la longueur totale des racines du fragment de base des hypocotyles inanitiés de 40, 50, 60, 70 et 80 mm est sensiblement égale à celle des fragments homologues non

TABLEAU 28. — *Différence entre les longueurs totales des racines apparues sur les divers fragments des hypocotyles non inanitiés et inanitiés (en mm, par groupe de 10 fragments semblables)*

|             |      |      |      |      |      |      |      |         |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|---------|
|             |      |      |      |      |      |      |      | +149    |
|             |      |      |      |      |      |      |      | — 16    |
|             |      |      |      |      |      |      | + 66 | — 39    |
|             |      |      |      |      |      |      | —143 | — 40    |
|             |      |      |      |      |      | + 98 | — 79 | — 44    |
|             |      |      |      |      |      | — 84 | — 50 | — 33    |
|             |      |      |      |      | + 19 | — 13 | — 63 | — 22    |
|             |      |      |      |      | — 73 | — 32 | — 8  | — 19    |
|             |      |      |      | — 15 | — 66 | — 49 | =    | — 11    |
|             |      |      |      | —136 | — 47 | — 46 | — 25 | — 6     |
|             |      |      | +276 | — 79 | — 71 | — 36 | — 62 | — 15    |
|             |      |      | + 33 | — 70 | — 54 | — 45 | — 33 | — 17    |
|             |      | —231 | — 18 | —104 | — 39 | — 36 | — 20 | — 17    |
|             |      | —153 | — 48 | — 80 | — 42 | — 37 | — 1  | — 1     |
|             | +283 | —118 | — 36 | — 53 | — 36 | — 17 | — 19 | — 14    |
|             | — 95 | —148 | — 30 | — 15 | — 2  | + 5  | — 1  | + 17    |
| Diff.totale | +188 | —645 | +177 | —550 | —408 | —291 | —394 | —116 mm |
| Hypo de     | 10   | 20   | 30   | 40   | 50   | 60   | 70   | 80 mm   |

TABLEAU 29. — *Différence entre les longueurs moyennes des racines apparues sur les divers fragments des hypocotyles non inanitiés et inanitiés (en mm, moyenne sur 10 fragments)*

|         |      |      |      |      |      |      |      |         |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|---------|
|         |      |      |      |      |      |      |      | +3,0    |
|         |      |      |      |      |      |      |      | +0,6    |
|         |      |      |      |      |      |      | +0,4 | +0,1    |
|         |      |      |      |      |      |      | —1,4 | —0,3    |
|         |      |      |      |      |      | +2,2 | —0,5 | —0,1    |
|         |      |      |      |      |      | —0,5 | —    | —0,2    |
|         |      |      |      |      | +1,4 | +0,4 | +0,1 | =       |
|         |      |      |      |      | +0,5 | —0,2 | +0,3 | +0,5    |
|         |      |      |      | +0,2 | —0,3 | —0,4 | +0,5 | +0,6    |
|         |      |      | —0,6 | —0,2 | —0,3 | +0,1 | +0,5 |         |
|         |      | +2,9 | —0,5 | —0,4 | —0,4 | —0,4 | +0,1 |         |
|         |      | +2,3 | —0,1 | =    | —0,4 | —0,3 | +0,1 |         |
|         | +1,7 | +1,2 | —1,0 | +0,1 | —0,3 |      | +0,4 |         |
|         | +0,8 | +0,2 | —0,7 | —0,2 | +0,2 | +0,3 | +0,6 |         |
|         | +1,9 | +0,8 | +1,1 | +0,2 | —0,2 | +0,2 | +0,3 | +0,6    |
|         | +0,4 | +1,0 | +1,6 | —0,7 | +0,2 | +0,5 | +0,6 | +0,9    |
| Lg-hypo | +1,8 | +1,5 | +2,0 | +0,2 | +0,3 | +0,4 | +0,3 | +0,7 mm |
| Hypo de | 10   | 20   | 30   | 40   | 50   | 60   | 70   | 80 mm   |

inanitiés. Il n'en est pas de même pour les hypocotyles jeunes (10 à 30 mm), où cette longueur totale est très nettement plus faible dans les séries inanitiées).

On constate donc que l'inanition atteint surtout, par une diminution, les fragments qui présentaient, avant l'inanition, les racines les plus longues et qu'elle modifie moins les fragments les plus déshérités. Elle augmente même parfois la valeur de ceux-ci.

Dans la région méristématique, on constate que les étapes de croissance qui se caractérisaient par une augmentation importante du nombre des racines, par suite de l'inanition, sont aussi celles qui montrent une augmentation importante de leur longueur totale.

Quel que soit l'âge de l'hypocotyle, la longueur moyenne des racines par hypocotyle augmente par suite de l'inanition. Cette augmentation est particulièrement forte dans les hypocotyles les plus jeunes, de 10 à 30 mm.

En général, la longueur moyenne des racines néoformées sur chaque fragment en particulier des hypocotyles inanitiés est plus grande que la longueur moyenne des racines néoformées sur les fragments homologues des hypocotyles non inanitiés.

Dans les hypocotyles jeunes de 10 à 30 mm, tous les fragments donnent ce résultat; il en est de même pour tous les fragments de sommet et de base, quel que soit l'âge de l'hypocotyle.

Dans la région du milieu des hypocotyles de 40 à 80 mm, il y a quelques exceptions. Ces exceptions sont surtout importantes dans la région située immédiatement sous le pseudo-méristème.

## CONCLUSIONS

Au début de ce chapitre, nous nous étions posé la question de savoir si le potentiel rhizogénique révélé par les racines néoformées sur les fragments découpés aux différents niveaux des hypocotyles, s'y trouvait à l'état fixé, ou bien s'il était susceptible soit de se déplacer, soit de se modifier, au cours de la croissance ou pendant la préparation des root-tests, par la technique de l'inanition.

1. Il y a une diminution progressive du potentiel global de l'hypocotyle, au fur et à mesure qu'il grandit.

2. En comparant le nombre des racines néoformées dans des régions identiques d'hypocotyles de plus en plus âgés, nous avons constaté que le potentiel rhizogénique y subit des fluctuations d'une étape de croissance à la suivante : augmentation ou diminution du nombre des racines. Tout se passe comme si, au cours de la croissance, des facteurs rhizogéniques venant des cotylédons, traversaient l'hypocotyle par flux successifs; la fragmentation des hypocotyles d'âges différents nous donne, en quelque sorte, des instantanés de cette translocation.

L'examen attentif de la vitesse d'apparition des racines et de leur longueur aux différents niveaux des hypocotyles, confirme ce résultat et montre, en outre, que cette translocation intéresse également les facteurs de croissance des racines néoformées, particulièrement dans le pseudo-méristème, au sommet de l'hypocotyle.

3. Le potentiel radiculaire global, par hypocotyle inanitié est relativement constant, quel que soit l'âge de l'hypocotyle.

4. La comparaison de la néoformation raculaire entre matériel inanitié et non inanitié nous montre que le processus de l'inanition modifie le potentiel raculaire aux différents niveaux des hypocotyles. De manière générale, sauf dans la région pseudo-méristématique, cette modification est une diminution de potentiel. A certaines étapes de croissance de l'hypocotyle, le potentiel raculaire de la région pseudo-méristématique, est augmenté à la suite de l'inanition. Cette augmentation, en absence des cotylédons, ne peut avoir pour origine qu'une redistribution de matériel rhizogénique à partir des régions de l'hypocotyle se trouvant immédiatement sous le pseudo-méristème, ce qui expliquerait la très forte diminution du potentiel raculaire révélé dans ces régions sous méristématiques. La valeur minimum atteinte par le potentiel rhizogénique, dans ces régions (2,5 racines, en moyenne, par fragment) est remarquablement constante, quel que soit l'âge de l'hypocotyle. Ceci nous suggère que ce potentiel rhizogénique minimum, constant, qui ne peut plus être éliminé par l'inanition, pourrait être considéré comme le facteur rhizogénique fixé mis en évidence par BOUILLENNE.

Enfin, la comparaison de la longueur des racines néoformées sur hypocotyles inanitiés et non inanitiés montre que les racines obtenues, en milieu nutritif complet, sur matériel inanitié sont généralement plus longues que sur matériel non inanitié.

## CHAPITRE V

### ETUDE DE L'ACTION DE L'INANITION SUR LE COMPORTEMENT METABOLIQUE DE LA PLANTULE DE *IMPATIENS BALASMINA* L.

Les chapitres précédents ont mis en lumière l'action importante jouée par l'inanition sur le matériel rhizogénique réparti dans l'hypocotyle et sur les facteurs de croissance des racines qui révèlent ce matériel.

Pour pouvoir préciser par quels processus l'inanition agit sur ces substances diverses, nous avons voulu connaître, au préalable, quelle influence elle exerce sur les principaux constituants de la plantule et sur son métabolisme général, révélé par ses échanges respiratoires. C'est pourquoi nous avons dosé ces constituants chimiques et ses échanges respiratoires sur matériel non inanitié et sur matériel inanitié.

#### I. — ETUDE DES PRINCIPAUX CONSTITUANTS CHIMIQUES DE LA PLANTULE DE *Impatiens Balsamina* L.

En 1936, H. WELSCH (30) a abordé l'étude des constituants chimiques de la Balsamine. Dans un travail remarquablement précis, il s'est attaché au problème du contenu en eau, en matière sèche et en azote de la plantule de Balsamine, avant et après inanition (voir page 131).

En 1939, R. et M. BOUILLENNE (5), ont étudié, de leur côté, la teneur en auxines des plantules et hypocotyles inanitiés de la Balsamine (voir page 138).

Nous avons poursuivi, par l'étude de la teneur en eau, en cendres, en sucres totaux et en éléments liposolubles du même matériel et nous avons aussi commencé l'étude de quelques substances spéciales : pigments flavoniques, anthocyanes, ferments.

### A. — Teneur en eau

Nous avons étudié la teneur en eau de la Balsamine, depuis le stade graine sèche jusqu'au stade où l'hypocotyle atteint une longueur de 120 mm (voir tableau 30). La culture est effectuée à l'obscurité complète et sur de l'eau de la distribution.

TABLEAU 30. — *Degré d'hydratation de la Balsamine au cours de sa germination et de sa croissance*

Les résultats sont exprimés :

en A : en grammes de matière sèche pour cent de matière fraîche, unité communément employée dans l'étude de la croissance.

en B : en grammes d'eau pour cent de matière sèche, unité employée dans l'étude des échanges respiratoires.

| Stades de croissance<br>des plantules | Cotylédons |     | Hypocotyles |      | Racines |      |
|---------------------------------------|------------|-----|-------------|------|---------|------|
|                                       | A          | B   | A           | B    | A       | B    |
| Graines sèches                        | 97,62      | 2,4 | —           | —    | —       | —    |
| trempées                              | 38,37      | 160 | —           | —    | —       | —    |
| Plantules de 15 mm                    | 32,28      | 204 | 4,52        | 2109 | 4,37    | 2185 |
| Plantules de 60 mm                    | 19,20      | 420 | 2,37        | 4260 | 4,42    | 2158 |
|                                       |            |     | 1) 3,43     | 2815 |         |      |
|                                       |            |     | °5) 2,16    | 4524 |         |      |
|                                       |            |     | 6) 2,16     | 4529 |         |      |
| Plantules de 120 mm                   | 11,48      | 771 | 2,38        | 4177 | 4,13    | 2317 |
|                                       |            |     | °°S) 2,74   | 3549 |         |      |
|                                       |            |     | B) 2,03     | 4805 |         |      |

°) Fragments de 10 mm : de sommet, de base et avant-dernier.

°°) Moitiés supérieure et inférieure de l'hypocotyle.

Les essais sont réalisés, tout d'abord, sur 2000 graines, triées avec soin et réparties en 8 répétitions. De la graine sèche, on élimine, par dessiccation, un peu moins de 2,5 % d'eau. La graine sèche, trempée pendant 24 heures dans de l'eau de la distribution perd, par dessiccation, un peu plus de 38 % de son poids mouillé, ce qui signifie que, pendant le trempage, la graine a absorbé une quantité d'eau équivalente à 62 %, environ, de son poids sec initial.

Les différences individuelles, en poids, entre les répétitions, ont été de : 3 % pour les graines sèches, au départ, et moins de 2 % pour les graines trempées.

Après dessiccation : 1) 250 graines non trempées pèsent, en moyenne : 2,81 grammes,

2) 250 graines trempées pèsent 2,6077 grammes, soit une différence de 7,2 %, par rapport aux graines non trempées. La dessiccation enlève donc aux graines trempées une certaine quantité d'eau qu'elle ne peut enlever aux graines sèches, normales.

Dans les plantules de 15 mm, l'hydratation est assez considérable dans les cotylédons (104), qui constituent la plus grande partie de la graine; elle est beaucoup plus considérable encore dans l'hypocotyle et les racines, qui ont, à ce stade, une teneur en eau sensiblement égale (2109-2185), les racines étant cependant un peu plus hydratées que l'hypocotyle.

Dans les plantules de 60 mm, les cotylédons (420,5) sont 5 à 10 fois moins hydratés que les autres organes : hypocotyle (4260) et racines (2158). Le degré d'hydratation des racines représente seulement 47 % de celui des hypocotyles. La recherche de la teneur en eau dans les fragments d'hypocotyle montre que les 10 mm du sommet

ont un degré d'hydratation qui représente seulement 62 % du degré d'hydratation du reste de l'hypocotyle et que les 10 mm de la base ont un degré d'hydratation équivalent à celui du milieu de l'hypocotyle.

Dans les plantules étiolées de 120 mm, les cotylédons (771) sont, de loin, les moins hydratés (3 à 7 fois). La moitié supérieure de l'hypocotyle (3549) est nettement moins hydratée que la moitié inférieure (4805). Enfin, les racines sont nettement moins hydratées que l'hypocotyle (2317).

*Evolution du degré d'hydratation de la plantule au cours de sa germination et de sa croissance*

Les cotylédons, qui représentent, en poids, presque toute la graine, sont très peu hydratés au départ (2,5 % d'eau). En 24 heures de trempage, ils atteignent un degré d'hydratation beaucoup plus élevé (38 %). Pendant la croissance de la plantule, ils continuent à s'hydrater régulièrement mais lentement.

Au début de la germination, les hypocotyles et les racines atteignent un degré d'hydratation qui leur est propre et qu'ils conservent pendant leur croissance. Le degré d'hydratation de l'hypocotyle (4177) est environ deux fois plus élevé que celui des racines (2317). Il est atteint aussi plus lentement.

*Influence de l'inanition sur la teneur en eau des plantules*

La durée de l'inanition est de 8 jours. Dans le tableau (31), les résultats obtenus sont comparés avec ceux des plantules non inanitiées.

Dans les plantules de 15 mm, on constate que le degré

TABLEAU 31. — *Influence de l'inanition sur la teneur en eau des plantules*

|                             | En gr/sec pour 100 fr |           | En gr d'eau pour 100 sec |           |
|-----------------------------|-----------------------|-----------|--------------------------|-----------|
|                             | Non Inanitiés         | Inanitiés | Non Inanitiés            | Inanitiés |
| 1. Plantules de<br>15 mm    |                       |           |                          |           |
| Hypocotyle                  | 4,52                  | 2,57      | 2109                     | 3764      |
| Racines                     | 4,37                  | 3,58      | 2185                     | 2689      |
| 2. Plantules de<br>60-80 mm |                       |           |                          |           |
| Hypocotyle                  | 2,37                  | 2,25      | 4260                     | 4340      |
| Racines                     | 4,42                  | 3,38      | 2158                     | 2528      |

d'hydratation a considérablement augmenté dans les hypocotyles (plus que doublé) mais beaucoup moins dans les racines. Les hypocotyles inanitiés sont ainsi devenus considérablement plus hydratés que les racines (40 % en plus).

Dans les plantules de 60 mm, le degré d'hydratation des hypocotyles passe de 4260 à 4340, au cours de l'inanition et celui des racines de 2158 à 2528. L'inanition, à ce stade de croissance, a pour effet d'augmenter le degré d'hydratation des organes mais cette augmentation est seulement de 1,6 % dans les hypocotyles déjà fort hydratés avant l'inanition et de 17 % pour les racines. Les racines sont encore beaucoup moins hydratées que les hypocotyles.

L'inanition a donc pour effet d'augmenter la teneur en eau des hypocotyles et des racines. Cette action est beaucoup plus forte à un stade très jeune (hypocotyles de 15 mm)

qu'à un stade plus âgé (hypocotyles de 60 mm), où les plantules ont des organes qui semblent avoir atteint une constante d'hydratation.

# B. — Teneur en cendres

Des quantités déterminées de matériel végétal desséché et amené à poids sec constant, sont pesées dans un creuset taré. Celui-ci est amené à la température de 600° C, pendant une heure. Les cendres sont pesées dans des conditions identiques à la première pesée. Leur poids est exprimé en grammes pour cent grammes de matière sèche. Les résultats sont réunis dans le tableau (32).

TABLEAU 32. — *Teneur en cendres de la plantule et de ses organes*  
(en grammes pour cent de matière sèche)

| Stades de croissance<br>de la plantule | Cotylédons | Hypocotyle | Racines |
|----------------------------------------|------------|------------|---------|
| Graine                                 | 3,76       | —          | —       |
| Plantules de 15 mm                     | 3,79       | 5,19       | 7,65    |
| Plantules de 60 mm                     | 6,99       | 7,65       | 9,31    |
| Plantules de 120 mm                    | 10,32      | 12,50      | 9,80    |
| 1/2 Sup.                               |            | 14,28      |         |
| 1/2 Inf.                               |            | 10,73      |         |

Deux essais sur graines sèches donnent respectivement 3,70 et 3,83 % de cendres.

Dans les plantules de 15 mm, les racines sont les plus riches en cendres (7,67 %), l'hypocotyle l'est nettement moins (5,19 %) et les cotylédons moins encore (3,79 %).

Dans les plantules de 60 mm, les racines sont les plus riches en cendres (9,31 %), l'hypocotyle l'est nettement

moins (7,65 %) et les cotylédons un peu moins encore (6,99 %).

Enfin, dans les plantules étiolées de 120 mm, l'hypocotyle (12,50 %) et les cotylédons (10,32 %) possèdent plus de cendres que les racines (9,80 %). Dans l'hypocotyle, le sommet (14,28 %) contient plus de cendres que la base (10,73 %). Il y a une sorte d'accumulation des éléments minéraux vers le sommet de l'hypocotyle.

*Evolution de la teneur en cendres des différents organes de la plantule au cours de sa germination et de sa croissance*

Les cotylédons qui possèdent, au départ, dans la graine sèche, un faible pourcentage de cendres (3,76), n'enrichissent pas cette quantité pendant les premiers stades de la germination. Ils le font seulement lorsque la plantule a, au moins, 15 mm de haut. Alors leur teneur en cendres augmente de façon assez rapide et régulière et dépasse même celle des racines.

La teneur en cendres de l'hypocotyle, au début de sa formation (5,19 %) est moins forte que celle des racines (7,67 %) mais plus forte que celle des cotylédons (3,79 %). Elle grandit considérablement pendant la croissance de la plantule et dépasse rapidement celle des racines. La teneur en cendres du sommet, en particulier, est plus grande que celle de la base (14,28 % contre 10,73 %). Cette dernière est assez proche de celle des racines. Il semble qu'il y ait une sorte de gradient de la base au sommet de l'hypocotyle.

La teneur en cendres des racines (7,67 %) est assez importante; elle grandit ensuite légèrement et semble

atteindre une valeur constante (un peu plus de 9 ‰), au cours de la croissance de la plantule.

*Influence de l'inanition sur la teneur en cendres des plantules*

Les essais ont porté sur les plantules inanitiées de 15 et 60 mm. Nous avons comparé, dans le tableau (33), les résultats à ceux obtenus sur plantules de même stade, non inanitiées.

TABLEAU 33. — *Teneur en cendres des plantules non inanitiées et inanitiées (en grammes pour cent de matière sèche)*

|                    | Matériel non inanitié | Matériel Inanitié |
|--------------------|-----------------------|-------------------|
| Plantules de 15 mm |                       |                   |
| Hypocotyles        | 5.19                  | 15.79             |
| Racines            | 7.65                  | 14.12             |
| Plantules de 60 mm |                       |                   |
| Hypocotyle         | 7.65                  | 16.01             |
| 1-2 Sup.           |                       | 18.60             |
| 1-2 Inf.           |                       | 13.72             |
| Racines            | 9.31                  | 11.76             |

Dans les deux séries, le pourcentage en cendres est beaucoup plus élevé dans tous les organes inanitiés que dans les non inanitiés et, en particulier, dans les hypocotyles.

Notons encore que, dans les stades 15 et 60 mm, les hypocotyles ont atteint pratiquement le même pourcentage (environ 16 %) de cendres, alors qu'ils portaient de pourcentages différents (5 % contre 7,5 % environ).

### C. — Teneur en azote

Comme nous l'avons dit au début de ce chapitre, H. WELSCH a étudié de façon très précise la teneur azote des plantules de Balsamine. C'est pourquoi, nous n'avons fait que quelques analyses d'azote dans les hypocotyles des plantules inanitiées et non inanitiées, afin de vérifier si notre matériel correspondait à celui utilisé en 1936.

Le tableau (34) donne les résultats de ces dosages, obtenus par le procédé classique du micro-Kjeldahl. Ils confirment ceux de WELSCH.

TABLEAU 34. — Teneur en azote des hypocotyles (en grs pour 100 sec)

| Hypocotyles de 60 mm | Non inanitiés | Inanitiés |
|----------------------|---------------|-----------|
| 1/2 Sup Hyp.         | 4.0           | 4.6       |
| 1/2 Inf Hyp.         | 4.0           | 4.6       |

L'inanition ne semble pas diminuer la quantité en azote de l'hypocotyle.

Il nous paraît intéressant de reprendre ici les principales conclusions du travail de WELSCH, concernant l'azote, afin de compléter cet exposé sur la composition

chimique globale de la Balsamine. Dans l'ensemble, l'azote représente entre 5 et 7 % du poids sec de la plantule entière.

« Au cours de la germination, le taux de l'Azote cotylédonnaire diminue progressivement. Celui de l'hypocotyle s'élève régulièrement. L'élévation est surtout rapide dans le quart supérieur, tandis qu'elle reste équivalente dans chacun des trois autres quarts. Le taux d'azote des racines est très variable. Il y a donc passage de l'azote des cotylédons dans l'hypocotyle. La translocation de l'azote cotylédonnaire se limite rapidement à la partie supérieure de l'hypocotyle, qui, seule, continue à s'allonger; mais elle cesse pour la partie inférieure et les racines. L'allongement de la partie inférieure de l'hypocotyle cesse lorsque l'imbibition de la matière azotée atteint une limite stable qui correspond à 0,1 pour cent environ du poids frais. La répartition de l'azote dans l'hypocotyle des plantules inanitiées ne varie pas. »

Ces conclusions du Dr WELSCH, qui, à l'époque, n'avait pas étudié l'anatomie et l'histologie de l'hypocotyle de Balsamine, donnent tous les arguments nécessaires à la localisation du pseudo-méristème que nous avons mis en évidence histologiquement, au sommet de l'hypocotyle.

#### D. — *Teneur en sucres totaux*

Les dosages sont limités à l'hypocotyle, tel qu'il est utilisé habituellement (60 mm de haut). L'hypocotyle est isolé de la plante-mère et divisé en deux parties égales : sommet, base. Les deux lots ainsi constitués subissent séparément mais simultanément les mêmes manipula-

tions d'extraction et de dosage. La méthode de dosage est celle, bien connue, de BERTRAND. Les résultats sont réunis dans le tableau (35). Chaque résultat est une moyenne sur trois, les variations individuelles ont été négligeables. Les résultats sont exprimés en grammes de glucose pour cent grammes de matière sèche.

TABLEAU 35. — *Teneur en sucres totaux de l'hypocotyle non inanitié et inanitié (en grs de glucose pour cent sec)*

| Organes        | Non inanitié | Inanitié |
|----------------|--------------|----------|
| 1/2 Sup. Hypo. | 37,19        | 7,62     |
| 1/2 Inf. Hypo. | 37,32        | 8,55     |

La teneur en sucres totaux de l'hypocotyle est extrêmement élevée : 37,25 % en moyenne. Elle est uniforme sur toute la longueur de l'hypocotyle.

L'inanition a pour effet de diminuer considérablement la quantité de sucres se trouvant dans l'hypocotyle : diminution de 79,5 % au sommet et de 77 % à la base

#### E. — *Teneur en éléments liposolubles*

Des essais préliminaires ont été réalisés avec différents solvants. Ils ont été effectuées sur des graines desséchées. La dessiccation a été pratiquée à deux températures différentes : rapide à 100° C ou prolongée à 40° C; les résultats obtenus dans ces deux conditions ont été identiques.

Les graines séchées sont pulvérisées au broyeur. L'extraction de la poudre se fait dans un soxhelet de 100 cc,

partout sur 10 grammes de matière sèche, avec 75 cc de solvant pur.

Chaque extraction dure une heure et la température est réglée pour donner le même nombre d'extractions à chaque essai d'un même solvant. Après l'extraction, le solvant est repris, évaporé à l'étuve jusqu'à dessiccation et poids constant.

Un traitement préalable de la poudre des graines sèches, à l'acide chlorhydrique 4N, afin de libérer les éléments liposolubles qui s'y trouveraient éventuellement à l'état combiné a donné des résultats identiques à ceux obtenus avec des graines non traitées.

Trois solvants ont été employés : le chloroforme l'éther sulfurique et l'éther de pétrole, tous chimiquement purs.

Le tableau (36), donne la quantité de substances liposolubles extraites par les différents solvants, pour 100 grammes de matière sèche.

TABLEAU 36. — *Quantités de substances liposolubles extraites par différents solvants de 100 grammes de matière sèche (en grs)*

|                  |                                                                                      |               |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Chloroforme      | Essai 1 : 20,65<br>Essai 2 : 20,52 dessic : 100° C<br>Essai 3 : 20,52 dessic : 40° C | Moyenne 20,56 |
| Ether de pétrole | Essai 1 : 17,57<br>Essai 2 : 17,60                                                   | Moyenne 17,59 |
| Ether sulfurique | Essai 1 : 20,34<br>Essai 2 : 20,41                                                   | Moyenne 20,38 |

L'éther sulfurique et le chloroforme donnent des résultats presque identiques : respectivement, en moyenne 20,37 et 20,56. Les substances solubles dans l'éther de pétrole sont en moins grande quantité, elles ne représentent que

TABLEAU 37. — *Quantités de substances liposolubles (en grs) dans les plantules de Balsamine (en grs pour 100 secs)*

|                     | Cotylédons | Hypocotyle | Racines |
|---------------------|------------|------------|---------|
| Graines             | 20,56      | —          | —       |
| Plantules de 15 mm  | 23,42      | 5,26       | 1,05    |
| Plantules de 60 mm  | 21,42      | 7,65       | 3,00    |
| Plantules de 120 mm | 15,34      | 7,37       | 4,26    |

17,59 %. Dès lors, le chloroforme a été choisi comme solvant.

Le tableau (37) donne les quantités d'éléments liposolubles dosés dans la balsamine, depuis la graine jusqu'à l'obtention d'une plantule de 120 mm de haut.

Les nombreux essais préliminaires ont montré que la graine sèche contient, en moyenne, 20,56 % de substances liposolubles, ce qui la range parmi les graines riches en graisses.

Dans les plantules de 15 mm, les cotylédons ont un contenu extrêmement riche en éléments liposolubles (23,42 %), l'hypocotyle un contenu assez faible (5,26 %) et les racines en sont presque dépourvues (1,05 %).

Dans les plantules de 60 mm, les cotylédons sont très riches en substances liposolubles (21,42 %), l'hypocotyle en possède en quantité nettement plus faible (7,65 %) et les racines encore moins (3,0 %).

Enfin, dans les plantules étiolées de 120 mm, on observe une grande quantité de substances liposolubles dans les cotylédons (15,34%) une quantité plus faible dans l'hypocotyle (moyenne 7,37 %); dans cet organe, le sommet est un peu plus riche que la base. Les racines, enfin, sont les moins riches en ces éléments (4,26 %).

*Evolution de la teneur en éléments liposolubles des différents organes de la plantule, au cours de la croissance*

Les cotylédons, après avoir augmenté leur contenu en éléments liposolubles pendant les premiers stades de la germination, perdent peu à peu ces réserves au cours de la croissance ultérieure de la plantule. Inversement, les hypocotyles s'enrichissent de ces éléments pendant un certain temps puis semblent stabiliser leur pourcentage aux environs de 7,5.

Les racines, avec un léger retard sur l'hypocotyle, s'enrichissent aussi de ces éléments liposolubles, de façon intense et continue.

Il semble donc bien que les éléments liposolubles circulent de façon basipète, au fur et à mesure que la plantule grandit. Les hypocotyles en acquièrent une certaine quantité jusqu'à atteindre un pourcentage (7,5 %) constant et les racines, à leur suite, en deviennent de plus en plus riches (1,05 - 3,00 puis 4,26 %).

*Influence de l'inanition sur le contenu en éléments liposolubles de la plantule*

Comparativement aux essais que nous venons de décrire, nous avons effectué des dosages dans les mêmes organes des plantules de 15 et 60 mm, ayant subi une inanition de 8 jours.

Le tableau (38) donne les quantités de substances liposolubles se trouvant dans les organes inanitiés et non inanitiés. Les résultats sont exprimés en grammes pour cent de matière sèche.

Les observations sont semblables dans les plantules

TABLEAU 38. — *Teneur en éléments liposolubles des plantules de 15 et 60 mm non inanitiées et inanitiées (en grs pour 100 sec)*

|                    | Non-Inanitiées | Inanitiées |
|--------------------|----------------|------------|
| Plantules de 15 mm |                |            |
| Hypocotyle         | 5,26           | 4,85       |
| Racines            | 1,05           | 7,67       |
| Plantules de 60 mm |                |            |
| Hypocotyle         | 7,65           | 6,44       |
| Racines            | 3,00           | 6,65       |

d'âges différents : pendant l'inanition, les hypocotyles perdent une partie de leurs éléments liposolubles, par contre, les racines en gagnent de grandes quantités, particulièrement dans les toutes jeunes plantules, où leur pourcentage passe de 1,05 à 7,67.

## F. — *Substances spéciales*

### 1. — *Auxine*

Extrait du travail réalisé en 1939, par R. et M. BOUILLENNE, sur la teneur en auxines des plantules et hypocotyles inanitiés de Balsamine, le tableau (39), page 133, donne l'évolution de la teneur en auxine (calculée en  $\gamma$  équivalents d'hétéroauxine par Kgr de matière fraîche), dans les plantules inanitiées, cotylédons et hypocotyles, au cours de la germination et de l'inanition.

Le contenu en auxine des hypocotyles de Balsamine diminue progressivement au cours de la germination à l'obscurité. Il diminue également au cours de l'inanition

TABLEAU 39. — *Evolution de la teneur en auxine (calculée en  $\gamma$  équivalents d'hétéroauxine par kg de matière fraîche) dans les plantules entières, cotylédons et hypocotyles de Impatiens Balsamina L., au cours de la germination, de l'inanition et de la culture en milieu sucré. (Les contrôles d'hétéroauxine utilisés variaient de 6 à 53  $\gamma/100$ .)*

| Imp. Balsamina Vilmorin, Paris<br>x, dans le diagr. I                                      | Teneur en auxine<br>en $\gamma/100$ | Imp. Balsamina Torch. Pasadena<br>o, dans le diagr. I                                       | Teneur en auxine<br>en $\gamma/100$ |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Graines sèches . . . . .                                                                   | 0                                   | —                                                                                           |                                     |
| Graines humides (24 heures<br>dans eau) . . . . .                                          | 0                                   | —                                                                                           |                                     |
| Plantules après 48 h. de ger-<br>mination . . . . .                                        | 2,2                                 | Plantules après 3 jours de<br>germination . . . . .                                         | 2<br>(1-2 cm de long)               |
| Plantules après 5 jours de<br>germination . . . . .                                        | 1,6<br>(2-3,5 cm de long)           | Plantules après 6 jours de<br>germination.<br>(3-8 cm de long)                              |                                     |
|                                                                                            |                                     | Cotylédons . . . . .                                                                        | 0,53                                |
|                                                                                            |                                     | Hypocotyles . . . . .                                                                       | 0,26                                |
|                                                                                            |                                     | Total . . . . .                                                                             | 0,79                                |
| Plantules après 10-12 jours de<br>germination<br>(10-12 cm de long)                        |                                     |                                                                                             |                                     |
|                                                                                            | Cotylédons . . . . .                |                                                                                             |                                     |
|                                                                                            | (12 jours)                          |                                                                                             |                                     |
|                                                                                            | Hypocotyles . . . . .               |                                                                                             |                                     |
|                                                                                            | (10 jours)                          | Plantules après 12 jours de<br>germination.<br>(12-15 cm de long)                           |                                     |
|                                                                                            |                                     | { Cotylédons . . . . .                                                                      | 0(?)                                |
|                                                                                            |                                     | { Hypocotyles . . . . .                                                                     | 0,2                                 |
|                                                                                            |                                     | Hypocotyles après :                                                                         |                                     |
|                                                                                            |                                     | 7 jours d'inanition . . . . .                                                               | 0                                   |
|                                                                                            |                                     | 7 jours d'inanition . . . . .                                                               | 0,1                                 |
| Hypocotyles après 10 jours<br>d'inanition . . . . .                                        | 0                                   |                                                                                             |                                     |
| Hypocotyles après 10 jours<br>d'inanition, puis 3 jours<br>dans saccharose 1,5 % . . . . . | 0                                   | Hypocotyles après 7 jours<br>d'inanition, puis 6 jours .<br>dans saccharose 1,5 % . . . . . | 0                                   |

des hypocotyles. Les hypocotyles inanitiés pendant 7 à 10 jours ne contiennent plus d'auxine en quantité dosable, après la méthode d'extraction à l'éther sulfurique.

2. — *Coloration jaune des extraits chloroformiques et aqueux*

La coloration jaune que prennent les extraits chloroformiques et aqueux, au cours des extractions et des dosages, s'observe également dans des coupes transversales de Balsamine, traitées par une solution de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Ce sont généralement des cellules du cylindre central, cellules situées aux environs des pôles de bois, qui prennent cette coloration. Celle-ci est intense et occupe toute la surface de la cellule intéressée, de sorte qu'on peut supposer que le colorant est contenu dans une grande vacuole unique.

Quand la coupe transversale est pratiquée dans une racine adventive en voie de formation mais se trouvant encore à l'intérieur des tissus de l'hypocotyle, on voit une intense coloration jaune au sommet de la racine, dans la région du méristème, et des files longitudinales de cellules jaunes à l'intérieur de la jeune racine, se prolongeant jusqu'aux cellules jaunes du cylindre central de l'hypocotyle.

Les racines primordiales d'une toute jeune plantule, (5 mm de haut), traitées, en gros, par une goutte de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , montrent, au bout d'un certain temps, une même coloration jaune, qui est surtout intense à la base de l'hypocotyle, là où se trouve le lieu d'insertion de ces racines. Il en est de même lorsque nous traitons les cotylédons. On voit des cellules jaunes parmi les tissus cotylédonaire.

La coloration s'intensifie en milieu alcalin. Elle disparaît en milieu acide.

La substance jaune est très soluble dans l'alcool iso-amylique, soluble dans l'alcool éthylique, dans l'eau bouillante, dans l'éther de pétrole et l'éther sulfurique bouillants.

Les flavones possèdent ces propriétés, en particulier une extrême solubilité dans l'alcool iso-amylique.

L'extrait aqueux, comme l'extrait alcoolique et l'extrait chloroformique donnent les réactions suivantes (3 cc d'extrait et 2 gouttes de réactif) :

- |                                              |                                                                               |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Témoin                                    | : brun clair.                                                                 |
| 2. Extrait + $\text{H}_2\text{SO}_4$ conc.   | : décoloration presque totale, devient jaune intense par un excès de potasse. |
| 3. » + KOH 1 %                               | : coloration jaune intense.                                                   |
| 4. » + $\text{NH}_4\text{OH}$ 30 %           | : coloration jaune intense.                                                   |
| 5. » + $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_8$ 5 % | : coloration jaune-brun assez intense.                                        |
| 6. » + $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$ 5 %          | : coloration verte fugace, devenant finalement brun-vert sâle, assez foncé    |
| 7. » + $\text{K}_1\text{O}_3$                | : coloration brun-rose.                                                       |
| 8. » + $\text{Al}_2\text{Cl}_6$              | : coloration jaune vert pâle.                                                 |

Cet ensemble de réactions nous permet de diagnostiquer des flavones; de plus, les réactions au bichromate, au perchlorure de fer et à l'iodate nous orientent, d'après LISON (17) et SIRONVAL (28), vers la conclusion qu'il existe des substances à radicaux di-phénols, en position ortho. Nous sommes donc amené à considérer que nos extraits contiennent des radicaux ortho-diphénols.

Le pigment flavonique apparaît au cours du processus de la germination, indépendamment des conditions de lumière et d'obscurité. L'extrait des graines ne donne pratiquement pas de réaction colorée mais celui des plantes très jeunes (5 mm de haut) ayant germé à la lumière ou à l'obscurité est positif.

Nous avons essayé, par différents procédés, d'isoler ces pigments flavoniques. Nous nous sommes heurté à la difficulté de les séparer des graisses, qui sont extraites en même temps, par les solvants employés.

L'extraction à l'alcool iso-amylque pur donne un pH final de 5,65 neutre au tournesol. La solution est évaporée sous vide. La solution, très claire au début, se trouble fortement au cours du refroidissement. On obtient néanmoins, en fin d'évaporation, des amas de cristaux en aiguilles, plus ou moins formés en étoile, au milieu de substances graisseuses et huileuses.

La première extraction alcoolique que nous avons réalisée ayant donné une meilleure cristallisation, a été refaite systématiquement, de la façon suivante.

Vingt cinq grammes de cotylédons (provenant de 1900 cotylédons), sont plongés dans l'alcool bouillant où ils séjournent pendant une heure. Cet alcool contient un peu de  $\text{CaCO}_3$ . On filtre ensuite l'extrait et on sèche les cotylédons à l'étuve à  $60^\circ \text{C}$  pendant deux heures et demie. Les cotylédons secs sont pulvérisés et repris par 40 cc d'alcool bouillant avec  $\text{CaCO}_3$  pendant 30 minutes. Les extraits sont réunis et mis à la glacière. La solution est jaune intense. Il se dépose alors, sur le fond du récipient une couche mince, jaune, graisseuse et il apparaît aussi une cristallisation abondante.

La présence des pigments flavoniques en forte concentration dans certaines cellules de l'hypocotyle et surtout, dans les cellules en voie de mitoses intenses des primordiums radiculaires, nous laisse entrevoir que ces pigments pourraient constituer un des maillons de la chaîne réactionnelle de la rhizogenèse.

La présence certaine de radicaux ortho-diphénols, vrai-

semblablement liés à ces pigments, renforce encore cette hypothèse. Elle nous fait rejoindre les observations de SIRONVAL, sur ces mêmes radicaux, liés aux tannins. dans la rhizogenèse du Fraisier des Quatre Saisons et des observations antérieures que nous avons réalisées sur des pigments anthocyanidiques, dans la Balsamine également.

Nous reprendrons cette question plus loin, mais nous pensons pouvoir attirer ici l'attention sur le rôle probable que doivent jouer ces radicaux et ces pigments dans la rhizogenèse, en particulier, par leur intervention dans les processus d'oxydo-réduction.

### 3. — *Ferments*

La recherche des ferments a été effectuée, de façon très sommaire sur des coupes transversales et longitudinales pratiquées dans des hypocotyles isolés, mis en culture dans un milieu nutritif et contenant, dans leurs tissus, des primordiums radiculaires en formation.

Les recherches ont porté sur les peroxydases et les phénolases.

Pour les peroxydases, les méthodes employées ont été :

1) méthode de PRENANT (27) : à la benzidine acidifiée et au perhydrol,

2) méthode de LOELE (18) : variante de la méthode de PRENANT,

3) méthode de LISON (17), aux zincs-leucos : solution acétique de fuchsine acide en présence de zinc en poudre et eau oxygénée.

Pour les phénolases,

1) méthode de GRAFF (16) ou M. nadi-oxydasereaction : mélange d'une solution d' $\alpha$  naphthol dans une lessive de

potasse et d'une solution aqueuse alcaline de chlorhydrate de diméthyl-p-phénylène-diamine.

2) méthode de LOELE (18) ou phénolréaction : solution de naphtolate de sodium.

Toutes ces réactions ont révélé la présence, dans l'hypocotyle, de peroxydases et de phénolases. Ces ferments sont, en général, dispersés dans les tissus de l'hypocotyle mais ils sont particulièrement concentrés dans l'épiderme, dans les cellules voisines des primordiums en formation et dans les cellules mêmes de ces primordiums.

Nous nous proposons de suivre, dans un prochain travail, le processus de leur formation ou de leur concentration, en particulier dans les régions actives de la rhizogenèse.

## II. — ETUDE DES ÉCHANGES RESPIRATOIRES DANS LA PLANTULE DE *Impatiens Balsamina* L.

Parallèlement au dosage des principaux constituants chimiques de l'hypocotyle de Balsamine, effectué au cours de la germination et de la croissance de la plantule, avant et après inanition, nous avons étudié, dans les mêmes conditions, les échanges respiratoires. Les recherches ont porté sur les plantules de différents âges, entières ou fragmentées, non inanitiées et inanitiées :

---

Les travaux relatifs à cette recherche ont été effectués grâce à une bourse des Echanges Culturels Franco-Belges, dans les laboratoires de Mr PLANTEFOL, professeur de botanique à la Sorbonne. Nous tenons à lui exprimer ici toute notre reconnaissance, ainsi qu'à Mr Moyse, Chargé de Recherche au CNRS, pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée.

1) Plantules entières, dont l'hypocotyle atteint 10 mm de haut,

2) Plantules entières, dont l'hypocotyle atteint 60-80 mm de haut,

3) Cotylédons de plantules ayant 60-80 mm de haut,

4) Hypocotyles ayant 60-80 mm de long.,

5) Deux moitiés (supérieure et inférieure) d'hypocotyles ayant 60-80 mm de long,

6) Fragments de 10 mm, d'hypocotyles ayant 60-80 mm de long,

7) Hypocotyles de plantules inanitiées de 60-80 mm de long,

8) Deux moitiés (supérieure et inférieure) d'hypocotyles de plantules inanitiées ayant 60-80 mm de long.

On place le matériel végétal à étudier dans des ampoules spéciales à respiration. On calcule, après essais préliminaires, la quantité de matériel à employer, en se basant sur le fait que l'on a, en moyenne, une émission de 1 cc de gaz carbonique par heure et par gramme de matière sèche et que la sensibilité de la méthode exige une émission de 11 cc de gaz carbonique environ pour 100 cc.

Dans ces ampoules, contenant, au départ, de l'air atmosphérique de composition connue (analysé dans des ampoules témoins), le matériel végétal se trouve dans des conditions identiques à celles de la culture initiale (germination).

Le matériel végétal est mis à respirer. Ensuite, l'air contenu dans les ampoules est extrait par un appareil spécial réalisé par PLANTEFOL et MOYSE (26). L'extraction totale peut être effectuée jusqu'à la réalisation, à l'intérieur des ampoules, d'une pression pratiquement égale à la tension de vapeur d'eau à la température am-

biente. Les gaz ainsi extraits sont chassés dans une seconde ampoule, dite à 2 robinets, dont le volume a été déterminé exactement par pesée. La pression des gaz respiratoires conduits dans cette ampoule à deux robinets est établie par un manomètre comparateur (PLANTEFOL et MOYSE). La dernière manipulation consiste dans l'analyse des gaz respiratoires contenus dans l'ampoule à 2 robinets, c'est-à-dire, le gaz carbonique et l'oxygène. Cette analyse se fait par l'eudiomètre simple de PLANTEFOL (25).

### I. — *Intensité respiratoire*

L'intensité respiratoire est calculée en cc de  $\text{CO}_2$  :

- a) par heure et par gramme de matière sèche,
- b) par heure et par gramme de matière fraîche.

On sait que l'intensité respiratoire des plantes et de leurs organes est très variable; elle est liée, non seulement à la nature des tissus, mais encore à leur état d'hydratation et à leur teneur en réserves sucrées et surtout en glucose; enfin, elle est influencée par leur âge pshysio-logique (MAYER 21, R. et M. BOUILLENNE 2, DEMARET 14). C'est pourquoi, nous n'avons comparé que les intensités

---

*Note* : On prélève un volume déterminé de l'air de l'ampoule à deux robinets, que l'on amène à la pression ordinaire. On absorbe en premier lieu le gaz carbonique par une solution de KOH et on obtient ainsi son volume; on absorbe ensuite l'oxygène par une solution de triacétyl. oxyhydroquinone et il reste finalement l'azote et quelques gaz résiduels. L'avantage de cette méthode d'analyse réside dans sa simplicité et son extrême rapidité. En moins de 10 minutes, elle est terminée, ce qui rend pratiquement négligeables les erreurs dues aux variations de pression et de température.

de tissus identiques ayant des degrés d'hydratation assez rapprochés.

1. — *Intensité respiratoire de la plantule entière, de ses cotylédons et de son hypocotyle* (tableau 40).

Le tableau (40) donne les résultats obtenus sur ces différents organes. Ces résultats sont, en général, des moyennes sur 3 essais.

TABLEAU 40. — *Intensité respiratoire de la plantule entière, de ses cotylédons et de son hypocotyle*

| Matériel                        | grs d'eau pour<br>100 sec | cc de CO <sub>2</sub><br>par gr. sec | cc de CO <sub>2</sub><br>par gr frais |
|---------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| Plantule entière de<br>60-80 mm | 1862                      | 1,65                                 | 0,085                                 |
| Ses cotylédons                  | 410,6                     | 1,05                                 | 0,210                                 |
| Son hypocotyle                  | 3325                      | 0,89                                 | 0,025                                 |

Du fait des différences énormes dans les poids frais et poids secs des cotylédons et de l'hypocotyle (plus de 8 fois), les résultats donnés par rapport à ces différents poids sont évidemment peu comparables. C'est le résultat par rapport au poids frais qui nous paraît susceptible de donner la meilleure représentation des phénomènes respiratoires.

Il résulte de leur étude que l'intensité respiratoire des cotylédons (0,210) est très forte; celle de l'hypocotyle (0,025) très faible, et celle de la plantule entière est une moyenne entre ces deux intensités (0,085).

II. — *Intensité respiratoire de l'hypocotyle et de ses divers fragments*

| Matériel                    | grs d'eau pour<br>100 sec | cc de CO <sub>2</sub><br>par gr sec | cc de CO <sub>2</sub><br>par gr frais |
|-----------------------------|---------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| Hypo. entier<br>de 60-80 mm | 3325                      | 0,89                                | 0,025                                 |
| 1/2 Sup. Hypo.              | 3428                      | 1,66                                | 0,045                                 |
| 1/2 Inf. Hypo.              | 4190                      | 1,12                                | 0,027                                 |
| Fragments de 10 mm          |                           |                                     |                                       |
| Fragment 1 (sommet)         | 2178                      | 2,28                                | 0,100                                 |
| Fragment 5                  | 3877                      | 2,65                                | 0,065                                 |
| Fragment 6 (base)           | 3615                      | 1,91                                | 0,050                                 |

Les différences de degré d'hydratation sont, ici, assez faibles (elles n'atteignent jamais 2 fois). La base de l'hypocotyle est toujours plus hydratée que son sommet.

Ici, tous les résultats concourent au même point : les fragments d'hypocotyles manifestent une intensité respiratoire plus grande que l'hypocotyle entier. Cette intensité respiratoire est d'autant plus grande que le fragment est plus petit. Nous avons, en effet, en moyenne :

pour l'hypocotyle entier :

0,89 cc de CO<sub>2</sub> par gr sec et 0,025 p. gr. fr.

pour les demis hypo. :

1,39 cc de CO<sub>2</sub> par gr. sec et 0,036 p. gr. fr.

pour les frag. de 10 mm :

2,28 cc de CO<sub>2</sub> par gr sec et 0,070 p. gr. fr.

ce qui représente, pour les demis hypocotyles 1,5 fois l'intensité de l'hypocotyle entier et, pour les fragments de 10 mm presque 3 fois cette intensité.

L'augmentation d'intensité respiratoire des fragments par rapport à l'hypocotyle entier est évidemment due, en grande partie, au traumatisme causé par le sectionnement de l'hypocotyle. Ce traumatisme est, comparative-ment plus grand pour les petits fragments que pour les grands.

Les fragments ont respiré pendant 24 heures. Le choc initial a donc probablement cessé de se faire sentir au moment de l'analyse mais il a produit ses effets du début dans le volume de l'atmosphère expérimentale. Il serait intéressant de suivre en détails l'évolution des intensités respiratoires à partir du choc opératoire, afin de connaître la durée d'action du traumatisme sur l'intensité respiratoire des fragments et de vérifier si les fragments contiennent normalement à respirer davantage que l'organe entier.

Les fragments de sommet présentent partout une intensité respiratoire plus grande que celle des fragments de la base de l'hypocotyle.

III. — *Intensité respiratoire de plantules entières d'âges physiologiques différents (plantules de 5-10 mm et de 60-80 mm)*

| Matériel                 | grs d'eau pour<br>100 cc sec | cc de CO <sub>2</sub><br>par gr. sec | cc de CO <sub>2</sub><br>par gr frais |
|--------------------------|------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| Plantules de<br>5-10 mm  | 311                          | 2,03                                 | 0,450                                 |
| Plantules de<br>60-80 mm | 1862                         | 1,65                                 | 0,085                                 |

Il y a une différence très importante du degré d'hydratation dans les deux séries (différence de 6 fois). C'est donc les résultats par rapport au poids frais qui seront les plus comparables. Ils montrent (comme, d'ailleurs, les résultats par rapport au poids sec) que les plantules en germination (5-10 mm) ont une intensité respiratoire beaucoup plus forte que les plantules plus âgées (de 60-80 mm).

*Influence d'une inanition de 8 jours sur l'intensité respiratoire de l'hypocotyle et de ses fragments*

| Matériel       | grs d'eau pour<br>100 sec |       | cc de CO <sub>2</sub><br>par gr. sec |       | cc de CO <sub>2</sub><br>par gr frais |       |
|----------------|---------------------------|-------|--------------------------------------|-------|---------------------------------------|-------|
|                | Non<br>Inan.              | Inan. | Non<br>Inan.                         | Inan. | Non<br>Inan.                          | Inan. |
| Hypo 60-80 mm  | 3325                      | 3476  | 0,89                                 | 0,58  | 0,025                                 | 0,015 |
| 1/2 Supérieure | 3428                      | 3867  | 1,66                                 | 0,35  | 0,045                                 | 0,010 |
| 1/ Inférieure  | 4190                      | 4655  | 1,12                                 | 0,41  | 0,027                                 | 0,010 |

Les degrés d'hydratation étant relativement semblables, les comparaisons sont ici possibles. Les intensités respiratoires des hypocotyles inanitiés et de leurs fragments sont extrêmement faibles. Elles sont plus faibles pour les fragments d'hypocotyles (0,33-0,41) que pour les hypocotyles entiers (0,50-0,66).

La comparaison avec des organes identiques non inanitiés montre que l'inanition diminue considérablement les intensités respiratoires :

pour l'hypocotyle entier, en moyenne de 0,89 à 0,58,  
pour sa moitié supérieure, en moyenne de 1,66 à 0,35,  
pour sa moitié inférieure, en moyenne de 1,12 à 0,41.

## II. — *Quotient respiratoire QR*

Le tableau 41 page 146 donne les quotients respiratoires, calculés d'après les échanges respiratoires des différents organes.

### I. — *Quotient respiratoire de la plantule entière de 60-80 mm, de ses cotylédons et de son hypocotyle entier*

Le QR de la plantule entière (0,75) est un quotient se trouvant d'une part, à la limite de la valeur généralement attribuée aux QR des plantes ayant un métabolisme de graisses et, d'autre part, à la limite de la valeur des QR des plantes ayant un métabolisme dans lequel les sucres ne sont pas complètement détruits par oxydation.

On comprend aisément la valeur de ce QR, quand on connaît celle des cotylédons (0,59) et celle de l'hypocotyle isolé (1,13). Le QR des cotylédons (0,59) est, incontestablement un quotient respiratoire basé sur une oxydation de lipides. Par contre, le QR de l'hypocotyle isolé est un quotient normal de respiration basée sur une oxydation glucidique.

Le quotient respiratoire de la plantule entière est donc une moyenne entre les deux types différents de métabolisme de ses cotylédons et de son hypocotyle.

### II. — *Hypocotyle entier et ses différents fragments*

Le QR de la moitié supérieure de l'hypocotyle est un peu inférieur à celui de la moitié basilaire, mais les différences sont très peu sensibles.

TABLEAU 41. — *Quotient respiratoire de la plantule et de ses organes (moyenne sur 2 ou 3 essais)*

| Matériel               | Quotient respiratoire | grs d'eau pour 100 sec |
|------------------------|-----------------------|------------------------|
| I. Plantule entière de |                       |                        |
| 60-80 mm               | 0,75                  | 1862                   |
| Ses cotylédons         | 0,58                  | 410,6                  |
| Son hypocotyle         | 1,13                  | 3325                   |
| II. Hypocotyle entier  |                       |                        |
| de 60-80 mm            | 1,13                  | 3325                   |
| Sa moitié supér.       | 0,97                  | 3428                   |
| Sa moitié infér.       | 1,11                  | 4190                   |
| Fragments de 10 mm     |                       |                        |
| 1. Sommet (1)          | 1,00                  | 2178                   |
| 2. 5 <sup>me</sup> (5) | 0,97                  | 3877                   |
| 3. Base (6)            | 1,05                  | 3615                   |
| III. Plantule entière  |                       |                        |
| de 10 mm               | 0,82                  | 311                    |
| Plantule entière de    |                       |                        |
| 60-80 mm               | 0,75                  | 1862                   |

Par ailleurs, un essai a été réalisé en découpant l'hypocotyle en 6 fragments de longueurs égales (environ 10 mm). La très longue durée des manipulations préliminaires n'a pas permis d'étudier tous les fragments. Le fragment de sommet (1), le fragment de base (6) et le fragment immédiatement supérieur au fragment de base (5) seuls ont été expérimentés.

Les résultats sur ces trois fragments sont fort semblables et peuvent être considérés biologiquement comme identiques. Ils ont pratiquement aussi le même QR que les demis hypocotyles et que l'hypocotyle entier.

L'hypocotyle de Balsamine semble donc avoir un quotient respiratoire de métabolisme glucidique; ce quotient est constant sur toute la longueur de l'hypocotyle.

III. — *Plantules entières d'âges physiologiques différents.*  
(*Plantules de 5-10 mm et de 60-80 mm*)

Compte tenu des différences individuelles, les résultats peuvent être considérés comme fort semblables. Les degrés d'hydratation de ces deux plantules sont cependant fort différents : 1862 contre 311 (6 fois).

*Influence d'une inanition de 8 jours sur le QR des hypocotyles et de leurs fragments.*

| Matériel        | grs d'eau pour 100 sec |       | Quotient respiratoire |       |
|-----------------|------------------------|-------|-----------------------|-------|
|                 | Non Inan.              | Inan. | Non Inan.             | Inan. |
| Hyp. : 60-80 mm | 3325                   | 3476  | 1,13                  | 1,00  |
| 1/2 Supér.      | 3428                   | 3867  | 0,97                  | 0,80  |
| 1/2 Infér.      | 4190                   | 4655  | 1,11                  | 0,85  |

Nous n'avons malheureusement réussi qu'un seul essai sur les demi-hypocotyles; cependant, leurs résultats étant concordants, nous pensons pouvoir en tenir compte.

Dans les trois séries expérimentales, on aboutit au même résultat : abaissement du QR par rapport aux témoins non inanitiés. Cependant, les hypocotyles entiers conservent une valeur tout à fait normale, indiquant un métabolisme glucidique complet. Par contre, les demis hypocotyles semblent révéler, par leurs quotients peu élevés, une action de l'inanition sur la nature des métabolites de base.

## CONCLUSIONS

L'étude des constituants chimiques de la plantule de Balsamine, au cours de sa germination et de l'inanition, ajoutée aux travaux de R. et M. BOUILLENNE sur l'auxine et surtout aux remarquables recherches de WELSCH sur le contenu en Azote de ce matériel, nous permet de mieux comprendre les processus internes qui président à la germination de la plantule et à son inanition. Ces deux phénomènes, rappelons-le, ont eu lieu à l'obscurité complète, le matériel étant cultivé dans de l'eau de la distribution.

1° Au cours de la germination, il y a une translocation basipète non interrompue de matière sèche, des cotylédons vers les racines.

2° Il y a translocation basipète d'azote des cotylédons dans l'hypocotyle et les racines, jusqu'à un certain stade de développement, caractéristique, d'une part, pour les racines, et d'autre part, pour les  $3/4$  ou les  $4/5$ èmes inférieurs de l'hypocotyle, mais la translocation se poursuit dans la région de sommet de l'hypocotyle.

3° Les cotylédons sont riches en matières liposolubles et il y a translocation basipète de substances liposolubles des cotylédons dans l'hypocotyle puis dans les racines.

4° Il y a translocation basifuge non interrompue des éléments minéraux absorbés par les racines dans l'hypocotyle, avec accumulation à son sommet et dans les cotylédons.

5° Pendant la prise d'eau, les cotylédons, qui représentent, en poids, presque toute la graine, atteignent très rapidement un degré d'hydratation assez élevé. Pendant

la croissance ultérieure de la plantule, ils continuent à s'hydrater mais beaucoup plus lentement.

Au début de la germination, les racines, puis les hypocotyles atteignent un degré d'hydratation qui leur est propre et qu'ils conservent pendant le reste de leur croissance.

C'est la matière protéique et non la teneur en poids sec et sa répartition qui détermine, par imbibition, l'importance de la croissance et la répartition de l'eau dans les différentes portions de la plantule.

6° Au cours de la germination, le contenu en auxines des cotylédons et des hypocotyles diminue progressivement.

7° L'hypocotyle prélevé au stade de croissance où il est habituellement employé (60-80 mm de long) est très riche en sucres. Ces sucres sont répartis de façon uniforme sur toute sa longueur.

### *Rôle de l'inanition*

1° Au cours de l'inanition, il n'y a pas de translocation appréciable d'azote, ni dans l'hypocotyle, ni dans les racines, mais une translocation basipète, le long de l'axe de l'hypocotyle, de la matière sèche non azotée, qui se trouvait dans l'hypocotyle au moment de l'inanition.

2° Il y a translocation basipète des substances liposolubles de l'hypocotyle vers les racines.

3° Il y a, vraisemblablement aussi, translocation basipète des sucres de l'hypocotyle vers les racines.

4° Il y a translocation basifuge des éléments minéraux absorbés par les racines dans l'hypocotyle avec forte accumulation à son sommet.

5° Il y a une augmentation progressive du degré d'hydratation des tissus dans les hypocotyles et les racines, au cours de l'inanition; cette évolution de l'hydratation est la même dans les plantules de même âge non inanitiées.

6° Il y a disparition de l'auxine dosable dans l'hypocotyle.

Dans l'interprétation des résultats obtenus sur la rhizogenèse, nous devons tenir compte de ces données et, en particulier, du fait que l'hypocotyle inanitié a le même contenu en Azote que le non inanitié et qu'il possède encore des quantités appréciables de métabolites tels que sucres et substances liposolubles. Il est beaucoup plus riche en éléments minéraux que l'hypocotyle non inanitié (dans lequel les éléments minéraux s'accumulent dans les cotylédons) et il est aussi beaucoup plus hydraté.

L'étude des échanges respiratoires nous permet de tirer encore quelques autres conclusions :

1° L'intensité respiratoire de la jeune plantule est très forte au début de la germination puis diminue au cours de la croissance ultérieure.

2° L'intensité respiratoire des fragments d'hypocotyle est plus forte que celle de l'hypocotyle entier et d'autant plus forte que les fragments sont plus petits.

3° Le quotient respiratoire de la plantule entière est une moyenne entre celui de ses cotylédons qui est caractéristique de l'utilisation des lipides et celui de son hypocotyle (et de ses fragments) qui est caractéristique de l'utilisation des sucres.

L'inanition diminue considérablement l'intensité respiratoire de l'hypocotyle et de ses fragments. Il diminue très légèrement leur quotient respiratoire et semble révélé-

ler, pour les fragments tout au moins, une certaine transformation dans la nature des métabolites de base.

Une fois de plus, dans l'interprétation des expériences sur la rhizogenèse, nous devons tenir compte de ces résultats et, en particulier, de la très grande intensité respiratoire des fragments d'hypocotyle par rapport à celle de l'hypocotyle entier et de la très forte diminution de l'intensité respiratoire, consécutive à l'inanition du matériel expérimental.

L'étude de certaines substances spéciales (flavones, anthocyanes, ferments) montre qu'il existe une relation entre la rhizogenèse dans l'hypocotyle et la présence de ces substances aux lieux de formation des primordiums radiculaires.

Nous mettrons tout particulièrement l'accent sur le pigment flavonique possédant dans sa molécule un radical di-phénolique, car LUNDEGARDH (19) a mis en évidence l'action de flavanone dans le processus d'oxydo-réduction et SIRONVAL (28), la présence simultanée de substances orthodiphénoliques et de processus rhizogénique.

Par ailleurs, la présence de fortes concentrations de phénolases et de peroxydases dans les cellules voisines des primordiums radiculaires, dans leurs premiers stades de formation, semble mettre en évidence un rôle important de ces substances dans les réactions primordiales de la rhizogenèse.

Les anthocyanes et les flavones, que l'on met en évidence, en même temps, dans ces régions à métabolisme très actif, sont un argument s'ajoutant aux observations de COMBES (10), WILLSTAETTER (32), EVEREST (15) et MASCRE (20), et militant en faveur de la théorie selon laquelle on assisterait, dans certaines cellules végétales, à une réaction couplée d'oxydo-réduction.

## RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

Ce mémoire s'encadre dans les recherches sur la rhizogenèse poursuivies depuis longtemps sous la direction du Professeur BOUILLENNE, et utilise le matériel excellent des plantules de *Impatiens Balsamina* L.

Au moment où nous avons commencé (1947), R. et M. BOUILLENNE publiaient une théorie de la rhizogenèse. Celle-ci, appréciée unanimement au récent Colloque International sur la morphogenèse, réuni à Strasbourg en 1949, constituait une excellente base de travail. D'après ces Auteurs, il existe, dans les plantules supérieures, deux états successifs de la rhizocaline, substance spécifique responsable de la formation des racines : un état mobile, précurseur et un état fixé. Au moins trois facteurs sont nécessaires pour que certaines cellules puissent être le point de départ d'un genre radicaire : rhizocaline mobile + auxine + enzyme cellulaire oxydasique, qui donnent la rhizocaline fixée.

La valeur rhizogénique de ces facteurs étant mesurée par le nombre des racines néoformées, dans certaines conditions expérimentales, il nous a paru important d'être assuré que la totalité du potentiel radicaire dans les différentes régions des hypocotyles aie pu être comptée. C'est pourquoi diverses techniques particulières ont été mises au point et l'examen des tissus a été poussé dans les régions de l'hypocotyle, au cours de l'allongement de cet organe.

L'étude anatomique et histologique de la Balsamine a été poursuivie. Nous avons décrit le parcours des faisceaux, particulièrement au niveau d'insertion des coty-

lédons, et mis en évidence un pseudo-méristème au sommet de l'hypocotyle. Nous avons montré que l'allongement de l'hypocotyle est dû presque exclusivement aux activités de ce pseudo-méristème. Nous avons précisé les conditions les plus favorables à la germination et montré l'influence tératologique des conditions anaérobiques sur les plantules en germination.

Les phénomènes initiaux de la rhizogenèse se réalisant à l'intérieur des tissus, nous avons utilisé deux méthodes d'observation nous permettant de les déceler aussi tôt que possible : la première consiste à prélever régulièrement des sujets et à les examiner après séjour dans le BOUIN-ALLEN et à l'acéolol 60°, qui éclaireissent fortement les tissus; la seconde (cfr LEJEUNIA 1947), consiste à pratiquer des coupes sériées successives dans le matériel et à les examiner au microscope après coloration à l'iode ioduré qui révèle sélectivement les primordiums radiculaires.

Nous avons tout d'abord étudié la néoformation des racines sur des hypocotyles entiers, cultivés dans les conditions précises de milieu, avec feuilles ou bien avec 2, 1 ou 0 cotylédon et aussi sur des hypocotyles entiers ayant subi un processus d'inanition. Le matériel expérimental a toujours été placé dans un milieu nutritif réputé complet, composé par M<sup>me</sup> BOUILLENNE, et dans lequel les racines formées s'allongent régulièrement pendant plus de trois mois.

Cette étude nous a montré que le potentiel de néoformation raculaire est double : d'une part, un nombre important de racines, brusquement décelées par l'amputation des racines principales. Les cellules du péricycle qui leur donnent naissance, semblent préparées à les former, en réponse à une action de réveil mitotique

(traumatisme); d'autre part, un supplément de racines apparaissant après un temps de latence de 12 jours. Le nombre de ces racines présente une certaine dépendance vis-à-vis des organes fixés à l'hypocotyle : 1 ou 2 cotylédons, ou feuilles. Ce nombre augmente selon une progression également en rapport avec les organes fixés sur l'hypocotyle.

Nous pensons que les cellules qui sont, dans ce dernier cas, responsables d'un primordium de racine ne sont pas prêtes instantanément à révéler ce deuxième potentiel rhizogénique. Cette rhizogénèse de deuxième jet est généralement située au sommet de l'hypocotyle. Elle est en rapport avec l'activité du pseudo-méristème. Cette manière de voir est confirmée par l'aspect différent que prennent les racines du 1<sup>er</sup> et 2<sup>me</sup> jet, dans les hypocotyles de plantes adultes cultivées avec feuilles. Les racines de 1<sup>er</sup> jet sont minces, celles de 2<sup>me</sup> jet sont épaisses.

Nous pensons donc que le premier type de rhizogénèse correspondrait à ce que BOUILLENNE appelle le facteur cellulairement fixé de la rhizogénèse (rhizocaline) et le deuxième, à l'arrivée dans certaines cellules du pseudo-méristème ou du cambium, d'un précurseur mobile et d'autres facteurs indispensables à la constitution de la rhizocaline fixée.

L'inanition retarde de 24 heures environ le brusque déclenchement de la rhizogénèse de 1<sup>er</sup> jet, par rapport au matériel non inanitié; elle arrête cette néoformation après un seul jour (au lieu de trois); elle détermine un nombre de racines formées, constant, inférieur au matériel non inanitié; elle supprime la néoformation de 2<sup>me</sup> jet.

Le maximum de racines obtenues dans le 1<sup>er</sup> jet et dans le 2<sup>me</sup> jet a été recherché en procédant à une frag-

mentation de plus en plus poussée des hypocotyles. Cette fragmentation a pour effet d'augmenter partout le nombre des racines néoformées.

Nous allons résumer séparément les observations faites sur le matériel non inanitié et inanitié.

La région pseudo-méristématique du sommet de l'hypocotyle non inanitié présente un nombre de racines proportionnel au nombre des fragments. Dans les autres régions de l'hypocotyle, le nombre des racines dépend de la longueur du fragment. Les conditions de culture « in vitro » en milieu nutritif de ces fragments étant identiques dans les deux cas, ce comportement différent est attribuable uniquement aux conditions internes qui règnent aux divers niveaux de l'hypocotyle.

Dans la région pseudo-méristématique, le nombre de racines ne varie pas selon la longueur du fragment. Chaque coupure déclenche, quelle que soit la longueur, un même nombre de racines. Il en résulte que, plus on fragmente, plus cette région hypocotylaïre manifeste un potentiel élevé. Il semble bien que l'on soit, dans ce cas, en présence de l'action mitotique du traumatisme, qui peut s'expliquer par l'augmentation du métabolisme que nous avons observée. La coupure trouve sur place, dans les cellules voisines, les facteurs rhizogéniques ou détermine la combinaison de ceux-ci par l'augmentation du métabolisme qu'elle provoque. Le fait que les grands fragments n'ont pas, ainsi, plus de racines que les tous petits fragments nous impose la conclusion qu'il n'y a pas de translocation. La rhizogenèse dépend d'un matériel non mobile, fixé préalablement ou qui subit une combinaison de fixation au moment même de la coupure.

Dans les régions inférieures de l'hypocotyle, le nombre

des racines est d'autant plus grand que les fragments sont plus longs. Ce comportement, lorsqu'il est suivi dans le temps, montre tout d'abord quelques racines au niveau de la coupure. Ensuite, des racines supplémentaires se montrent progressivement à divers niveaux. On pourrait rapprocher cette réponse à la coupure, dans les fragments, aux deux types de rhizogenèse décrites précédemment dans l'hypocotyle entier; les racines supplémentaires pourraient correspondre à la rhizogenèse de 2<sup>me</sup> jet. Dans tous les cas, le nombre total des racines par fragment est d'autant plus considérable que le fragment est plus long, impliquant, selon nous, une translocation de matériel rhizogénique mobile. Le comportement des fragments des hypocotyles inanitiés confirme ce point de vue.

Nous avons constaté que le nombre des racines apparues sur les fragments inanitiés était, dans l'ensemble, diminué par suite de l'inanition. Cependant, la région pseudo-méristématique se comporte parfois de façon singulière. Elle montre, dans certains cas, un nombre de racines plus important que s'il n'y avait pas eu d'inanition. Cette région s'est enrichie pendant l'inanition. Les autres régions présentent toutes une diminution. Celle-ci est particulièrement sensible dans la région située sous le pseudo-méristème. Au milieu de l'hypocotyle, on trouve généralement un nombre minimum de racines, remarquablement constant. Nous avons fait allusion à ce fait plus haut et nous y attachons une grande importance. Il exprime, selon nous, le potentiel fixé que l'inanition ne mobilise pas. A la base de l'hypocotyle, la diminution du nombre des racines est faible.

Ce comportement rhizogénique des différents niveaux de l'hypocotyle inanitié nous suggère qu'il y a :

1) une élimination d'une partie du matériel rhizogénique vers les racines principales;

2) une redistribution de ce matériel dans certaines régions de l'hypocotyle. La région pseudo-méristématique y gagne, à partir des niveaux immédiatement inférieurs, et la base, à partir du milieu de l'hypocotyle. Le milieu de l'hypocotyle perd le plus et les racines qu'il fait quand même met en évidence une quantité minimum de matériel rhizogénique que l'inanition ne peut toucher et dont la constance nous suggère qu'elle était préalablement fixée.

Le matériel éliminé ou redistribué pendant l'inanition est, selon nous, celui qui vient s'ajouter au minimum visible dans la région médiane. Ils correspondent aux facteurs mobiles, précurseurs de la rhizocaline et des auxines.

La question se pose, à propos de ce matériel inanitié, de savoir si une inanition de 8 jours a éliminé tout le matériel mobilisable vers les racines principales ou bien si le facteur mobile dont nous apercevons les déplacements provient d'une remise en circulation d'éléments fixés préalablement.

A notre avis, tout le matériel mobile n'a pas été éliminé entièrement. Cette conclusion provient des observations que nous avons faites sur des fragments découpés dans des hypocotyles de plus en plus âgés, non inanitiés et inanitiés, qui n'ont pas manifesté de modifications morphologiques mais bien des fluctuations dans leur potentiel racinaire : augmentation, diminution.

Ces fluctuations sont, à notre avis, l'expression d'un déplacement de matériel rhizogénique mobile. Elles se retrouvent encore après huit jours d'inanition.

Jusqu'à présent, nous n'avons pas d'opinion sur les causes qui déterminent cette circulation rythmique qui,

d'ailleurs, est en rapport avec les courbes de croissance de l'hypocotyle. Mais, dans tous les cas, ces fluctuations démontrent la présence de matériel mobile, dans les hypocotyles inanitiés, en quantité correspondant à la longueur des fragments.

Le matériel fixé, personne n'a pu l'extraire jusqu'à présent. Le matériel mobile est fortement diminué par le processus d'inanition. Les analyses générales que nous avons faites comparativement sur plantules et hypocotyles non inanitiés et inanitiés ne nous donnent pas de réponse, qu'il s'agisse de l'évolution de la teneur en eau, en matière sèche, en sucres, en éléments liposolubles et en azote qu'il s'agisse de l'évolution de l'intensité respiratoire et du quotient respiratoire.

L'augmentation considérable de l'intensité respiratoire dans les tissus de l'hypocotyle non inanitié et inanitié, par suite de la fragmentation nous paraît très importante du point de vue de la rhizogenèse. C'est le seul changement que nous ayons constaté et il coïncide, dans les deux cas, avec l'augmentation considérable du potentiel radiculaire.

Si la fragmentation, de part et d'autre, augmente les Intensités respiratoires et le nombre de racines formées, par rapport aux hypocotyles entiers, il n'en reste pas moins que l'inanition provoque à la fois la diminution des intensités respiratoires et du nombre des racines formées en milieu nutritif complet. Cette double diminution du métabolisme et du potentiel radiculaire dépend donc de ce qui a disparu dans l'inanition, comme BOUILLENNE l'a proposé.

Dans quelle mesure métabolisme et rhizogenèse sont-ils liés ? nous ne pouvons y répondre jusqu'à présent. Nous

espérons bien approfondir la question dans un travail ultérieur.

Néanmoins, nous pensons que le radical di-phénolique, associé soit à des tannins, comme l'a montré SIRONVAL dans le Fraisier, soit à des flavones, comme nous l'avons mis en évidence, pour la Balsamine, dans le présent travail, doit être impliqué dans la chaîne des réactions qui aboutissent à la rhizogenèse, en présence d'un métabolisme intense. Nous pensons qu'en faisant jouer, de façon précise, les facteurs : température et tension en oxygène sur le matériel inanié et non inanié, nous pourrions définir davantage encore le rôle des réactions métaboliques et de ces différents facteurs dans la rhizogenèse. C'est ce que nous avons l'intention de réaliser prochainement.

On pourrait s'étonner qu'au terme de ces conclusions, nous n'ayons pas rencontré d'autres travaux que ceux de l'Ecole de Liège, alors que la littérature sur la rhizogenèse est extrêmement abondante. C'est, qu'en réalité, l'immense majorité des recherches, surtout des recherches actuelles, ont porté sur les auxines, sur leur translocation, leur rôle physiologique et leur chimisme.

D'autre part, les cultures « in vitro » des fragments d'hypocotyles, que nous avons maintenus en survie pendant plusieurs mois ne sont guère comparables aux cultures typiques de tissus, qui ont été réalisées par un grand nombre de chercheurs. (ROBBINS 49, 51, WHITE 59, GAUTHERET 44, BONNER ET ADDICOTT 36).

En ce qui concerne les auxines, nous avons pensé, après BOUILLENNE 5, COOPER 42 et beaucoup d'autres encore, qu'elles n'étaient pas le facteur rhizocalinique

mais qu'elles devaient cependant jouer un rôle dans la rhizogenèse. Ce rôle des auxines peut être multiple :

1) elles peuvent modifier l'élongation cellulaire (SNOW 55, AVERY et VAN OVERBEEK 35, ROBBINS 50, SCOTT 52, GAUTHERET 45, BURSTROM 39);

2) elles peuvent agir comme co-enzyme dans un système respiratoire : COMMONER et THIMANN 40, BONNER 38;

3) elles favorisent ou inhibent la croissance selon leurs concentrations : GOODWIN 46, SOLACOLU 56, ALBAUM 33, VAN OVERBEEK 57-58, SKOOG 53, FERMAN 43, BOUILLENNE 5, BONNER 37;

4) aux fortes concentrations, elles mobilisent vers les points d'application les substances azotées et les carbohydrates : NEIL STUART 48, MITCHELL 47, SMITH 54, COOPER 41, ALEXANDER 34, BOUILLENNE 7, MOUREAU 23.

Dans ces conditions, nous avons effectué nos cultures dans un milieu nutritif où l'auxine se trouve en concentration biologique, ce qui exclut toute activité pharmacodynamique sur la rhizogenèse.

Pour aller à l'encontre de l'objection de SKOOG, selon laquelle des substances nutritives, comme l'adénine, pourraient être la substance spécifique de la rhizogenèse, nous avons employé le mélange nutritif mis au point par M<sup>me</sup> BOUILLENNE et qui constitue un milieu très complet, extrêmement favorable à la croissance des racines. Par ailleurs, nous avons montré, dans cet exposé, que la rhizogenèse se réalisait brusquement, après le choc métabolique du traumatisme, et que, dans ces conditions, elle était indépendante des facteurs nutritifs.

Enfin, nous sommes heureux de rencontrer, comme l'a fait le professeur BOUILLENNE, au *Colloque de Strasbourg*,

l'accord des embryologistes animaux, en particulier lorsque WOLFF 60 déclare :

« ... l'analogie, dans le phénomène de la différenciation, entre le monde animal et le monde végétal est complétée, lorsque nous voyons l'hypocotyle entier manifester des potentialités rhizogènes limitées : il ne donne qu'un nombre défini de racines dans des conditions précises. Si on le fragmente en petits tronçons, le nombre total de racines donné par les morceaux est supérieur à celui qu'aurait donné l'hypocotyle entier. Il y a là un pouvoir de régulation, que nous observons dans le règne animal chez de nombreux œufs (œuf d'Oursin, blastoderme d'Oiseau) en vertu duquel un fragment manifeste des potentialités beaucoup plus étendues qu'il n'en aurait montrées en connexion avec l'ensemble. L'isolement libère des propriétés morphogènes latentes ».

En terminant ce travail, il nous reste le très agréable devoir de remercier tout particulièrement :

Monsieur le Professeur et Madame BOUILLENNE, pour les conseils précieux qu'ils n'ont cessé de nous prodiguer au cours de ces recherches,

Monsieur le Professeur MONOYER, qui a bien voulu revoir, avec nous, les problèmes se rapportant à l'anatomie

Monsieur le Professeur PLANTEFOL et Monsieur MOYSE, chargé de recherches au C. N. R. S., qui nous ont très aimablement accueilli dans les laboratoires de l'Ecole Normale Supérieure et nous ont guidé dans nos premières recherches sur les échanges respiratoires,

tous les Membres de l'Institut de Botanique, qui nous ont apporté souvent une aide anonyme mais toujours généreuse,

enfin, et surtout, le Fonds National de la Recherche Scientifique, qui a rendu ce travail possible, grâce aux subsides qu'il a bien voulu nous accorder, d'abord comme Aspirant puis comme Chargé de Recherches,

et nous ne terminerons pas sans exprimer aussi notre reconnaissance aux Membres des Echanges Culturels Franco-Belges et, en particulier, à Monsieur le Professeur FLORKIN, grâce auxquels nous avons pu nous rendre à Paris pour y effectuer les recherches qui concernent le métabolisme.

---

## OUVRAGES CITÉS

1. BOUILLENNE R. et M. : *Bull. Ac. Roy. Belg.* 17, 7, 1931.
2.       »       »       » : *Ann. Phys. et Physicochimie* 4, p. 426, 1926.
3.       »       »       et WENT : *Ann. Jrd. Bot. Buitenzorg* 43, 1933.
4.       »       »       : Congrès Intern. Bot. Amsterdam, 1935.
5.       »       »       et M. : *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.* 71 (1) 43, 1938.
6.       »       »       : Congrès Ass. Fr. Avanc. Sci. Liège, 1939.
7.       »       »       et M. : *Lejeunia* 11 (2).
8.       »       »       » : *Bull. Acad. Roy. Cl. Sci.* 12, 790 puis 870.
9. CHAUVEAUD G. : *Ann. Sci. Nat.* 9<sup>me</sup> série, 13, 1911.
10. COMBES R. : *C4R Acad. Sci.*, 157, 1913.
11. DELARGE L. : *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.*, 69 (1), 28, 1936.
12.       »       : *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège*, 6-7, 1939.
13.       »       : *Mém. Soc. Roy. Sci. Liège*, 2<sup>me</sup> série, 5, 1941.
14. DEMARET et R. BOUILLENNE . *C4R Soc. Biol.* p. 1543, 1933.
15. EVEREST : *Proc. Roy. Soc.*, 90, 1918, p. 251.
16. GRAEFF S. : *Abderh. Hdb.*, 1926.
17. LISON L. H. : *istochimie animale*, Gauthier, Paris, 1936.
18. LOELE W. : *Die Phenolreaction und ihre Bedeutung fur die Biologie*  
(Leipzig, Klinkhardt, 1912).
19. LUNDEGARDH : *Ark. f. Bot.*, 31 A (3) 1944.
20. MASCRE : *Bull. Soc. Bot.* 70, 1923.
21. MAYER A. et PLANTEFOL : *Ann. Physiol.*, p. 238, 1925.
22. MOUREAU J. : *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège*, 12, 562, 1939.
23.       »       : *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège*, 2, 41, 1940.
24.       »       : *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.*, 73, 142, 1940-41.
- 24b. NOEL R. : *Lejeunia*, 11, (2), 1947.
25. PLANTEFOL L. : *Bull. Soc. Chimie Biol.*, 15, n° 7, 1933.
26.       »       et MOYSE : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 30, 1-2, 1948.
27. PRENANT M. : *Arch. Morph. exp. gén.*, 2, 1924.
28. SIRONVAL C. : *Leujeunia*, 11, (2), 1947.
29. THIMANN K.V. et F. WENT : *Proceed. Kon. Akad. Wetensch.*,  
Amsterdam, 37, 456, 1934.
30. WELSCH H. : *Protoplasma*, 22, (1), 1934.
31. WENT F. : *Plant Physiol.*, 14, (2), 355, 1939.
32. WILLSTAETTER : *Sitzber. Akad. Wiss.*, Berlin, p. 402, 1914.

## OUVRAGES CITÉS DANS LES CONCLUSIONS

33. ALBAUM G.H. : *Amer. Jour. Bot.*, 25 (2), 124, 1938.
34. ALEXANDER L.T. : *Plant Physiol.*, 13, (4), 845, 1938.
35. AVERY G.S. et VAN OVERBEEK J. : *Bull. Torrey Bot. Club.* 26, (6), 313. 1935.
36. BONNER J. : et ADDICOTT F.T. : *Bot. Gaz.*, 99, 144, 1937.
37. » : *Amer. Jour. Bot.*, 26, (7), 557, 1939.
38. » : *Bull. Torrey Bot. Club*, 70, (2), 184, 1943.
39. BURSTROM H. : *Landbrukshogskolans Annaler*, 10, 209, 1942.
40. COMMONER B. et THIMANN K.V. : *Jour. Gen. Physiol.*, 24, (3), 279, 1941.
41. COOPER W.C. : *Bot. Gaz.*, 99 (3), 599, 1938.
42. » : *Plant Physiol.*, 11 (4), 779, 1936.
43. FERMAN R. : *Rec. Trav. Bot. Neerl.*, 35, (1), 197, 1938.
44. GAUTHERET R.J. : *C-R. Acad. Sci.*, 204, (11), 887, 1937.
45. » : *C-R, Soc. Biol.*, 130, (1), 7, 1939.
46. GOODWIN R.H. : *Amer. Jour. Bot.*, 42 (1), 43, 1937.
47. MITCHELL J. : *Bot. Gaz.*, 101, (2), 1939.
48. NEIL STUART W. : *Bot. Gaz.*, 100, (2), 298, 1938.
49. ROBBINS W.J. : *Bot. Gaz.*, 73, 376, 1922.
50. » : *Amer. Jour. Bot.*, 24, (2), 83, 1939.
51. » : *Jour. Arnold. Arboretum*, 27, (4), 480, 1946.
52. SCOTT L.E. : *Bot. Gaz.*, 100, (1), 167, 1938.
53. SKOOG F. : *Amer. Jour. Bot.*, 25, (5), 361, 1938.
54. SMITH P.F. : *Amer Jour. Bot.*, 29, (9), 785, 1942.
55. SNOW R. : *New Phytol.*, 34, (5), 347, 1935.
56. SOLACOLU D. : *C-R. Soc. Bol.*, 103, (7), 437, 1936.
57. VAN OVERBEEK J. : *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 23, (5), 272, 1937.
58. » » : *Amer. Jour. Bot.*, 33, (2), 100, 1946.
59. WHITE Ph. : *Plant Physiol.*, 9, (3), 585, 1934.
60. WOLFF : *Coll. Intern. Morphogénèse*. Strasbourg, 1949.

BIOLOGIE VÉGÉTALE

**De l'influence des hormones végétales de synthèse  
sur la croissance de *Fusarium vasinfectum*,**

par R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND

*Résumé.* — Les auteurs, préoccupés depuis plusieurs années des propriétés très particulières des hormones végétales de synthèse sur la croissance des plantes supérieures et ayant tenté d'établir les conditions de leurs actions spécifiques, étudient à présent l'action de ces mêmes hormones sur la croissance *in vitro* de divers Champignons et Bactéries.

La croissance en milieu nutritif de *Fusarium vasinfectum* Atk. (Wilt du Coton) est temporairement inhibée par l'acide B indol-acétique à 1 gr. ‰ et définitivement bloquée par l'acide B indol-propionique à la même concentration. L'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique a, dans les mêmes conditions, peu d'action freinante.

La spécificité générale des hormones de synthèse est confirmée à l'échelle des Thallophytes et l'action nettement bactériostatique de l'acide B indol-propionique est mise en évidence.

Dans une précédente recherche, nous avons constaté que la croissance du mycélium de *Agaricus hortensis* (Cooke) *var. albida* Lange peut être considérablement inhibée par addition, au milieu de culture, de certaines concentrations d'hormones végétales de synthèse, en particulier de l'acide B indol-propionique.

Aux concentrations à partir de 5 mgr. par litre de milieu nutritif, l'acide B indol-propionique retarde la croissance du mycélium, tandis que les mêmes concentrations (5-10-20-50 mgr/litre) d'acide B indol-acétique ou de 2-4 D. sel sodique (2-4 Dichlorophénoxyacétate de Na) n'ont pas d'effet très marqué.

Cette différence d'action de deux corps homologues (acide B indol-acétique, acide B indol-propionique) est assurément fort intéressante à signaler et (bien qu'il s'agisse ici d'un organisme

inférieur) nous devons la rapprocher de résultats analogues obtenus sur des végétaux supérieurs. En effet, nous avons mis en évidence à maintes reprises les réactions nettement spécifiques de ces hormones d'application employées comme herbicides sur diverses mauvaises herbes Dicotylées (1). De même E. HAGSAND et E. ABERG (2), 1950, signalent que l'acide 2. Méthyl-4. Chlorophénoxyacétique (2 M. 4 Cl.) est plus actif sur *Galeopsis sp.* que le 2-4 D (acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique). Les auteurs suggèrent deux hypothèses explicatives :

1) ou bien la composition chimique de la sève cellulaire des plantules de *Galeopsis* est telle que les substances de croissance produites par la plante agissent en synergie avec le produit utilisé.

Il y aurait donc action additive du 2 M. 4 Cl. et des substances autogènes de *Galeopsis* ; quand la concentration totale est suffisante les plantes sont tuées.

2) ou bien la sève de *Galeopsis* est moins inhibitrice vis-à-vis du 2 M. 4 Cl. que du 2-4 D. et dans ce cas elle neutraliserait plus facilement l'effet du 2-4 D. que celui du 2 M. 4 Cl.

Cette seconde hypothèse implique que le végétal fabrique normalement un produit capable d'inactiver l'hormone appliquée. Elle se rapproche de l'action antivitaminique de certains corps. HARTELIUS Vagn. (3), 1946, a montré que le sulfanilamide inhibe fortement la germination de conidies de *Aspergillus niger*, mais qu'un mycélium en pleine croissance du même organisme est capable de fabriquer suffisamment d'acide paraminobenzoïque pour éliminer l'effet antivitaminique de 50 mgr de sulfanilamide ajouté à 55 cc. de milieu nutritif.

De même, CIFERRI R. et G. SCARAMUZZI (4), 1949, ont trouvé que l'effet inhibiteur de divers sulfonamides sur la croissance des *Chlorella* est variable. L'ordre de l'action inhibitrice est : sulfanilamide > sulfapyridine > sulfathiazol pour les Algues vertes, tandis que pour les Thallophytes non pigmentés, la progression d'action toxique est inverse : sulfathiazol > sulfapyridine > sulfanilamide.

Ces auteurs ont montré aussi que l'acide paraminobenzoïque

inhibe considérablement l'action antivitaminique de la sulfanilamide, moins fort celle de la sulfapyridine et encore moins celle du sulfathiazol appliqués à des Algues vertes, tandis que pour des Thallophytes non pigmentés, c'est l'inverse qui se produit. Ils suggèrent donc que la sulfanilamide, qui est le plus fort inhibiteur de la croissance des Algues vertes, agit principalement en bloquant l'acide paraminobenzoïque de ces organismes, tandis que la sulfapyridine et le sulfathiazol interfèrent avec certains processus biologiques par leurs radicaux pyridine ou thiazol (les interrelations avec le métabolisme des Thallophytes autotrophiques et hétérotrophiques étant jusqu'à présent inconnues).

Dans l'état actuel de nos connaissances, il n'est pas possible de suggérer une explication biochimique valable pour le comportement différent de corps aussi voisins que les acides B indol-acétique ou B indol-propionique vis-à-vis de certains végétaux déterminés. Cependant le fait de l'action particulièrement inhibitrice de l'acide indol-propionique est indéniable ainsi qu'il résulte des observations relatées ci-après.

\* \* \*

Dans le travail présenté aujourd'hui, nous avons examiné l'action de trois hormones d'application :

l'acide B indol-acétique,

l'acide B indol-propionique,

le 2-4 D. sel sodique (dichlorophénoxy-acétate)

sur un organisme pathogène de certains végétaux : *Fusarium vasinfectum* Atk. parasite du Coton sur lequel il provoque le *Wilt*.

Nous avons utilisé une culture de ce *Fusarium vasinfectum* isolée par le Docteur J. MOUREAU, chef du laboratoire de Phytopathologie de l'INÉAC, à Yangambi, au Congo Belge et entretenue sur malt-agar dans nos laboratoires par M. J. RAMAUT, Assistant.

Pour nos cultures expérimentales, nous avons utilisé le milieu de Richard :

|                                       |       |     |
|---------------------------------------|-------|-----|
| Nitrate potassique                    | 10    | gr. |
| Sulfate magnésique                    | 0,25  | gr. |
| Monophosphate potassique $K H_2 PO_4$ | 5     | gr. |
| Sucrose pur                           | 50    | gr. |
| Amidon pur                            | 10    | gr. |
| Chlorure ferrique                     | trace |     |
| Agar                                  | 20    | gr. |
| Eau                                   | 1.000 | cc. |

Le milieu est coulé en boîtes de Pétri, stérilisé à l'autoclave ; puis les boîtes ensemencées avec une quantité approximativement pareille de mycélium. Les boîtes sont incubées à 26°C.

La croissance du mycélium est extrêmement rapide et exubérante ; d'une manière générale après 15 jours, les boîtes de Pétri sont couvertes d'un feutrage blanc extrêmement dense dans lequel se forment des spores en quantité considérable. Les cultures sont blanches à l'obscurité ; au revers, une coloration jaune plus ou moins intense existe généralement.

Après quelques heures de séjour à la lumière, une intense coloration rose vif se développe. La lame compacte plus ou moins épaisse, prend des tonalités allant du rose pâle au rose accentué.

#### EXPÉRIENCE PRÉLIMINAIRE.

Un premier essai de culture est fait le 25 avril 1951 sur un milieu de Richard, après addition, dans les diverses séries expérimentales, des produits à étudier :

Série 1. milieu Richard pur

Série 2. milieu Richard + 20 $\gamma$  °/°° acide B indol-acétique

Série 3. milieu Richard + 20 mgr °/°° acide B indol-acétique

Série 4. milieu Richard + 20 $\gamma$  °/°° acide B indol-propionique

Série 5. milieu Richard + 20 mgr °/°° acide B indol-propionique

Série 6. milieu Richard + 1 c.c. °/°° de micro-aliments et vitamines de R. et M. BOUILLENNE (5).

Série 7. milieu Richard + 20 mgr °/°° 2-4 D. acétate de Na.

Chaque série comporte quatre boîtes de Pétri.

Le 2 mai, soit 7 jours après l'ensemencement, une boîte de chaque série est retirée de l'étuve et mise sur une table de laboratoire (pleine lumière, 18° C.) Après quelques heures, la coloration rose se présente à la surface des filaments. Le *Fusarium* continue à se développer et couvre peu à peu la surface de la gélose.

Après 15 jours (10 mai), on retire les séries placées à l'étuve. Un aspect très différent caractérise les cultures mises à la lumière et celles qui sont restées à l'obscurité. Dans les cultures restées à l'obscurité, le mycélium s'est étendu sur toute la surface de la gélose à partir du centre ; mais le feutrage blanc aérien est formé très inégalement. Dans les cultures mises à la lumière, celui-ci se dispose plus régulièrement. La morphologie des cultures sera exposée ultérieurement. Car, ce qui nous intéresse ici, c'est l'intensité du développement mycélien.

Nous avons réalisé des mesures de poids des cultures : le feutrage mycélien forme une lame coriace qui n'entre pas dans la gélose et s'en détache assez facilement. Les plaques mycéliennes détachées sont soigneusement nettoyées des parcelles de gélose adhérente et placées entre des feuilles de papier filtre épais. Après dessiccation, on pèse (voir tableau I, les valeurs en poids sec).

TABLEAU I.

*Poids secs en gr. des cultures de Fusarium vasinfectum, après 15 jours dans les :*

| Séries              | 1.    | 2.    | 3.    | 4.    | 5.    | 6.    | 7.    |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| mises à la lumière  | 0.608 | 0.726 | 0.578 | 0.658 | 0.668 | 0.662 | 0.632 |
| mises à l'obscurité |       |       |       |       |       |       |       |
| a)                  | 0.779 | 0.889 | 0.664 | —     | 0.723 | 0.649 | 0.621 |
| b)                  | 0.732 | 0.807 | 0.759 | 0.626 | 0.677 | 0.543 | 0.661 |

On voit que, après 15 jours, toutes les cultures, quelles que soient les séries et les expositions (lumière-obscurité), donnent des chiffres de poids secs assez comparables :

1) les vitamines ajoutées n'ont pas d'effet activant bien marqué, ce qui n'est pas étonnant ; les cultures de *Fusarium* sont d'une telle exubérance qu'on peut supposer que cet orga-

nisme est capable de fabriquer tous les radicaux des micro-aliments organiques nécessaires à sa croissance.

2) les doses maximum d'hormones végétales de synthèse employées (20 mgr ‰) ne sont pas suffisantes pour provoquer une inhibition du développement de *Fusarium*.

#### INFLUENCE DU P.H.

Le milieu de Richard a un pH de 4.2. L'addition de fortes quantités d'acides indol-acétique ou propionique abaisse légèrement le pH du milieu.

Bien que *Fusarium* pousse normalement en milieu très acide, il faut s'assurer qu'un abaissement de pH de quelques dixièmes ne peut être tenu pour responsable d'éventuelles modifications dans le développement du mycélium.

Dans la présente expérience, nous avons utilisé quatre milieux de Richard à des pH différents :

- |                                                                                         |         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| I. milieu de Richard additionné de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ |         |
| amené au pH .....                                                                       | pH 5.5. |
| II. milieu de Richard pur .....                                                         | pH 4.2. |
| III. milieu de Richard additionné d'acide B indol-                                      |         |
| acétique (1 ‰) .....                                                                    | pH 3.9. |
| IV. milieu de Richard additionné de $\text{H}_3\text{PO}_4$ amené au                    | pH 3.6. |

Le 17 mai quatre boîtes par série sontensemencées au moyen de la culture I. du 25 avril (culture sur milieu de Richard pur) et incubées à 26°C.

Cinq jours plus tard, les cultures sont en voie de développement, et dans chaque série d'une manière très homogène; elles sont pratiquement superposables.

La culture III. pH 3.9. sur acide B indol-acétique en concentration de 1 gr. par litre de milieu est nettement en retard sur les autres.

Les poids secs obtenus en récoltant les plaques de mycélium confirment le fait de ce retard à la croissance qui se maintient dix jours plus tard, ainsi qu'en témoigne un nouveau relevé des poids secs (voir tableau II).

TABLEAU II.

Poids secs en gr. des cultures de *Fusarium* obtenues sur  
4 milieux à pH différents (après 15 jours).

|                | I.<br>pH 5.5 | II.<br>pH 4.2 | III.<br>pH 3.9<br>avec acide indol<br>acétique | IV.<br>pH 3.6<br>avec $H_3PO_4$ |
|----------------|--------------|---------------|------------------------------------------------|---------------------------------|
| après 5 jours  | 0.1107       | 0.2223        | 0.060                                          | 0.1854                          |
| après 10 jours | 0.6000       | 0.9724        | 0.345                                          | 1 gr. 236                       |
| après 48 jours | —            | —             | 1.257                                          | —                               |

Les poids secs, tout comme l'aspect des cultures, manifestent une action inhibitrice de l'acide B indol-acétique, et puisque le pH 3.6. plus acide ne présente pas la même réaction, il semble bien que cette inhibition n'est pas due à un abaissement du pH du milieu mais bien à l'action de l'acide indol-acétique comme tel.

Il faut toutefois remarquer que cette inhibition est temporaire. Après un mois environ, *Fusarium* a développé une épaisse et abondante prolifération de mycélium et son poids sec a atteint 1.257 gr., comparable à celui des autres milieux où le poids est resté stationnaire.

#### INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DES SOLUTIONS D'HORMONES DIVERSES.

Dans cet essai, nous avons incorporé au milieu de Richard des quantités croissantes d'acides indol-acétique, indolpropionique, de 2-4 D sel sodique et une concentration de 2-4-5 T. (acide 2-4-5 Trichlorophénoxyacétique) ce qui nous a donné treize séries contenant par litre de milieu :

|    |                           |     |     |
|----|---------------------------|-----|-----|
| 1. | acide B indol-acétique    | 20  | γ   |
| 2. | » » »                     | 20  | mgr |
| 3. | » » »                     | 200 | mgr |
| 4. | » » »                     | 1   | gr  |
| 5. | acide B indol-propionique | 20  | γ   |
| 6. | » » »                     | 20  | mgr |
| 7. | » » »                     | 200 | mgr |
| 8. | » » »                     | 1   | gr  |

|     |                    |     |          |
|-----|--------------------|-----|----------|
| 9.  | 2-4 D. sel sodique | 20  | $\gamma$ |
| 10. | » » »              | 20  | mgr      |
| 11. | » » »              | 200 | mgr      |
| 12. | » » »              | 1   | gr       |
| 13. | acide 2-4-5 T.     | 20  | mgr      |

Quatre boîtes par série sontensemencées le 4 mai avec respectivement les souches II, IV, VII et I des cultures préliminaires du 25 avril. Celles-ci, comme nous l'avons dit, ont poussé sur milieu contenant 20  $\gamma$  par litre des corps étudiés. Le témoin, milieu de Richard seul, n'a pas été utilisé puisque nous savons, par les expériences précédentes, que ce milieu seul, et ce milieu plus 20  $\gamma$  d'acide indol-acétique ou indol-propionique donnent les mêmes valeurs de croissance.

Comme précédemment, les implantats placés au centre de chaque boîte se comportent, dans chaque série, avec une homogénéité remarquable.

Dès le 4 mai, il apparaît clairement que :

1) les concentrations de 20  $\gamma$  et 20 mgr  $^{\circ}/_{\infty}$  des acides B indol-acétique et B indol-propionique, 2-4 D et 2-4-5 T, donnent des cultures fort semblables et de croissance rapide.

2) les concentrations au delà de 200 mgr par litre, des trois premiers corps ont une influence freinante sur le diamètre des cultures et l'effet d'inhibition observé permet de les ranger par ordre décroissant d'activité : acide B indol-propionique > acide B indol-acétique > 2-4 D. sel sodique.

Pratiquement, le 2-4 D. ne se montre pas inhibiteur de la croissance diamétrale du *Fusarium* quelle que soit la concentration utilisée.

Ces résultats sont très évidents par l'examen de la série de photos prises après quatorze jours le 18 mai (1).

L'acide B indol-propionique est de beaucoup plus inhibiteur que l'acide B indol-acétique. Dans le premier (1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$ ) il n'y a eu pratiquement aucune croissance, tandis que dans le second (1  $^{\circ}/_{\infty}$  également) il y a simplement retard de la croissance en diamètre et en poids, et si le 2-4 D. continue à n'avoir aucune action inhibitrice, le 2-4-5-T (20 mgr) paraît avoir favorisé l'accroissement en épaisseur des cultures.

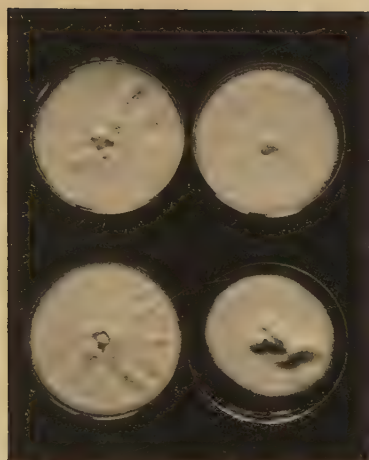


Photo n° 1

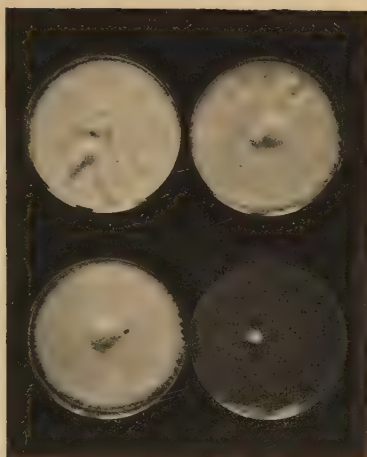


Photo n° 2

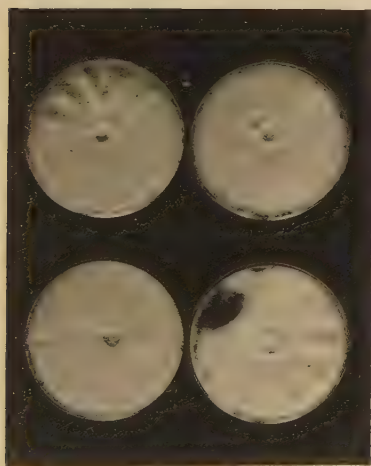


Photo n° 3

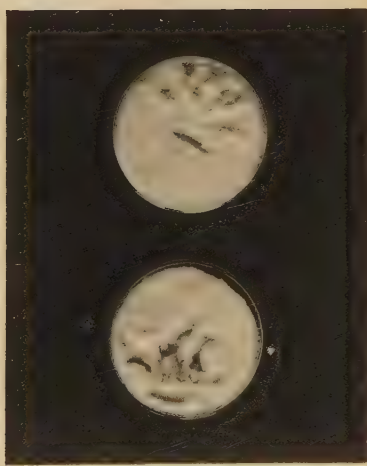


Photo n° 4

Fig. I.

Aspect des cultures de *Fusarium vasinfectum* après 14 jours de culture sur milieu de Richard additionné de :

Photo N° 1 : acide B indol-acétique.

Photo N° 2 : acide B indolpropionique.

Photo N° 3 : 2-4 D sel sodique.

Photo N° 4 : 2-4-5 T acide.

Sur les photos 1, 2, 3, les 4 concentrations du produit utilisé sont :

De gauche à droite, en haut : 20  $\gamma$ , 20 mg.; en bas : 200 mg., 1 g. par litre.

La photo N° 4 représente deux cultures, en une seule concentration, de 2-4-5 T. acide : 20 mgr. par litre.



Les poids secs effectués sur les cultures photographiées le 18 mai donnent les résultats du tableau IV.

TABLEAU IV.

Poids secs en gr. de cultures de *Fusarium vasinfectum* en solutions d'hormones de synthèse en diverses concentrations.

|                              | 20 $\gamma$ | 20 mgr. | 200 mgr. | 1 gr par litre<br>de milieu |
|------------------------------|-------------|---------|----------|-----------------------------|
| acide B indol-acétique       | 0.5614      | 0.6542  | 0.3867   | 0,206                       |
| acide B<br>indol-propionique | 0.5815      | 0.5689  | 0.4328   | 0.005                       |
| 2-4 D sel sodique            | 0.5987      | 0.4321  | 0.4855   | 0.5865                      |
| 2-4-5 T.                     | —           | 0.8548  | —        | —                           |

L'innocuité du 2-4 D vis-à-vis de *Fusarium*, mais aussi de *Agaricus hortensis* et de diverses espèces de *Coprinus* <sup>(1)</sup> n'implique pas nécessairement que tous les champignons sont épargnés par l'activité toxique ou inhibitrice de cette hormone de synthèse qui détruit presque toutes les plantes supérieures Dicotylées à des concentrations relativement faibles. BOVER WAYNE et F. L. SLIFE (6), 1948, étudiant l'action de trois composés à base de 2-4 D. : sel sodique, amine et butyl-ester, sur trois champignons parasites : *Pythium debaryanum*, *Gibberella zeae*, *Helminthosporium victoriae*, ont montré que toutes les concentrations employées (0.250-0.500-1.-2. pour mille) de sel sodique et de l'amine, tuèrent le premier, que le butyl-ester en retarda la croissance et que les deux autres champignons ne furent pas tués ; leur croissance fut simplement ralentie dans les trois cas et pour toutes les dilutions.

#### CONCLUSIONS.

L'acide B indol-propionique appliqué en fortes concentrations (de 200 mgr à 1 gr. par litre) inhibe considérablement la croissance de *Fusarium vasinfectum* Atk.

(1) Observations non publiées.

L'inhibition présentée par ce corps est nettement plus considérable que celle de l'acide B indol-acétique. De plus, elle est définitive tandis que l'action de l'acide B indol-acétique est temporaire. (Il n'en reste pas moins vrai qu'à la concentration de 1 °/oo gr., l'acide B indol-acétique retarde considérablement le développement du mycélium).

Elle ne provient pas d'une modification du pH du milieu. Elle produirait, semble-t-il, sur la physiologie de *Fusarium*, une action additive des radicaux indol et propionique.

Le 2.4 D., le 2-4-5 T. paraissent n'avoir aucune action inhibitrice.

L'action si particulière de l'acide B indol-propionique fait songer à l'usage qui est fait en médecine vétérinaire comme fungicide de l'acide propionique.

Dans une prochaine communication, nous étudierons l'action de ces mêmes corps sur certains champignons parasites de l'homme et des animaux.

#### INSTITUT BOTANIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE.

Laboratoire de Physiologie végétale  
et Centre de Recherches des Hormones végétales (I. R. S. I. A.)

#### BIBLIOGRAPHIE.

- (1) M. BOUILLENNE-WABRAND et collab. Diverses publications depuis 1949. dans *Bul. Horticole de Liège Soc. Roy. des Sciences de Liège. Publ. de l'IRSIA* (sous presse) de 1949 à 1950. Plus particulièrement M. BOUILLENNE-WALRAND et L. EVRARD, *Soc. Roy. Sciences Liège* 1951.
- (2) E. HAGSAND et E. ABERG. — *Annals of the Royal agricultural Collège of Sweden*, 17, 1950.
- (3) V. HARTELIUS. — *C. R. Lab. Carlsberg*, 24, 17, 1946.
- (4) R. CIFERRI et G. SCARAMUZZI. — Acido-paminobenzoico e sulfamidici nella crescita di Cloroficee, clorofiliane ed acloriche. — *Atti. Inst. Bot. Univ. Lab. Crittogamico Pavia*. Série 5 (3-4); 337-340, 1949.
- (5) R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. — A propos du Bouturage du Houx. *Bull. soc. Horticole de Liège*. Déc. 1949.
- (6) M. BOVER WAYNE and F. L. SLIFE. — *Phytopath.*, 38, 12, 1948.





BIOLOGIE VÉGÉTALE

**Action de certaines phytohormones d'application sur la  
croissance de champignons inférieurs :**

*Trichophyton* div. sp., *Staphilococcus aureus*, *Sarcina  
lutea*, *Pseudomonas aeruginosa*,

par R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND.

*Résumé.* — Les phytohormones étudiées, en diverses concentrations, ont révélé une action toxique sélective sur des cultures in vitro de *Trichophyton* div. sp., de *Staph. aureus*, *Sarc. lutea*, *Ps. aeruginosa*. Cette action spécifique très nette est parallèle à celle que ces substances manifestent sur les plantes supérieures et qui les désigne comme herbicides sélectifs.

Les auteurs, conscients du rôle thérapeutique que peuvent jouer ces phytohormones non toxiques pour l'homme et les mammifères, et peu coûteuses, se félicitent d'avoir pu établir une collaboration fructueuse avec Madame Mixhel-Walrand, spécialisée en recherches chimiothérapeutiques des affections cutanées et avec divers médecins.

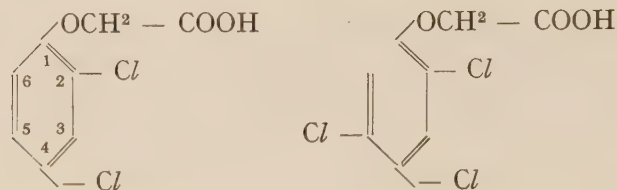
Les rapports de deux médecins praticiens concernant des cas graves pénicillo-résistants sont joints à la présente note.

Dans une précédente note (1), nous avons montré qu'un Champignon pathogène du coton, *Fusarium vasinfectum* Atk, est temporairement inhibé dans sa croissance in-vitro par l'acide  $\beta$  Indol-acétique à la concentration de 1 gr  $\text{‰}$  et *définitivement* par l'acide  $\beta$  Indol-propionique à la même concentration, tandis que le 2-4 Dichlorophénoxyacétate sodique, à la même dose, se montre relativement peu actif.

Il nous a paru extrêmement intéressant, au double point de vue scientifique et pratique, d'examiner le comportement de quelques Champignons inférieurs et Bactéries, vis-à-vis des différentes phytohormones d'application et de voir si la toxicité sélective manifestée par ces corps dans le cas des végétaux supérieurs peut s'étendre aussi aux végétaux inférieurs.

C'est ainsi que l'un de nous a déjà eu l'occasion de montrer (2), par exemple, que le 2-4 D et le 2-4-5 T se comportent vis-à-vis des plantules d'Avoine et de Froment de manière absolument

inverse. Le 2-4 D est très toxique pour le Froment, moins toxique pour l'Avoine. Le 2-4-5 T est très toxique pour l'Avoine, moins toxique pour le Froment.



Ces deux corps ne diffèrent cependant que par la présence d'un Cl en plus dans le 2-4-5 Trichlorophénoxyacétate sodique (1).

Comme on le sait, les hormones végétales d'application sont inoffensives pour l'homme et les animaux. Les doses toxiques chez les souris dépassent de beaucoup celles qui sont employées pour le traitement, aux herbicides, des plantes comestibles. On comprend dès lors la généralisation de l'arrosage, à très grande échelle, des cultures modernes par ces produits.

Leur innocuité pour nous est également la raison pour laquelle nous avons entrepris l'étude systématique des réactions qu'ils provoquent chez certains groupes de végétaux parasites. Peut-être en résultera-t-il une extension de leur application.

## I. RECHERCHES SUR TRICHOPHYTON

Dans la note présentée aujourd'hui, nous étudions l'action des hormones d'application sur un organisme dont certaines formes sont parasites des animaux et de l'homme : *Trichophyton* (Hyphomycètes, Mucédinacées).

Les trois souches utilisées dans nos essais sont : I. *Trichophyton Schönleini* (Lebert) Langeron et Talice, Syn : *Achorion Schönleini* ; II. *Trichophyton Violaceum*, Sabouraud ap. Bodin ; III. *Trichophyton Crateriforme* Sab.

Ces trois souches proviennent du « Centraalbureau voor Schimmelcultures ». Directeur, Professeur J. WESTERDIJK, à Baarn.

(1) Dans une récente recherche, 1951, LEAPER et BISHOP (3) proposent que la plus forte activité physiologique des acides chlorophénoxyacétiques est associée à la présence de 2 positions non substituées dans le noyau benzénique, en position para l'une avec l'autre.

Les produits ont été gracieusement fournis par HOFMAN-LAROCHE de Bâle et par SOLVAY de Bruxelles.

Le milieu de culture est celui de Sabouraud (4) :

- 1) Maltose : 40 gr.
- 2) Peptone : 10 gr.
- 3) Agar : 15 gr.
- 4) Eau : 1.000 cc.

auquel nous ajoutons, comme tampon, par litre, 0,310 gr. de  $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$ , 12  $\text{H}_2\text{O}$ .

Le pH du milieu normal est : 6.5

Le pH du milieu normal +  $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$  est : 6.9 — 7.

Les séries expérimentales contiennent respectivement par litre :

| Séries.                                                             | pH   |
|---------------------------------------------------------------------|------|
| 0. : milieu pur + $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$ :                      | 6.9  |
| 1. : milieu pur + 20 $\gamma$ d'acide $\beta$ Indol-acétique :      | 6.9  |
| 2. : milieu pur + 20 mgr d'acide $\beta$ Indol-acétique :           | 6.85 |
| 3. : milieu pur + 200 mgr d'acide $\beta$ Indol-acétique :          | 6.7  |
| 4. : milieu pur + 1 gr d'acide $\beta$ Indol-acétique :             | 5.2  |
| 5. : » » + 20 $\gamma$ d'acide $\beta$ Indol-propionique :          | 6.9  |
| 6. : » » + 20 mgr d'acide $\beta$ Indol-propionique :               | 6.85 |
| 7. : » » + 200 mgr d'acide $\beta$ Indol-propionique :              | 6.7  |
| 8. : » » + 1 gr d'acide $\beta$ Indol-propionique :                 | 5.2  |
| 9. : » » + 20 $\gamma$ d'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique (2-4D) : | 6.9  |
| 10. : » » + 20 mgr d'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique :            | 6.85 |
| 11. : » » + 200 mgr d'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique :           | 6.65 |
| 12. : » » + 1 gr d'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique :              | 5.1  |

Le milieu est coulé en boîtes de Pétri et stérilisé à l'autoclave à 110° pendant 20 minutes.

Chaque organisme est implanté dans trois boîtes de Pétri pour chaque série expérimentale. Les boîtes de Pétri reçoivent très approximativement la même quantité d'implantat. Elles sont ensuite placées en étuve biologique à 26°C.

#### A. CULTURES PRÉLIMINAIRES.

Les cultures réalisées dans les milieux contenant les hormones aux diverses concentrations ont été examinées après 8-10 et 15 jours.

Après le dernier examen, soit après 15 jours de culture, les mycéliums sont tués au formol ; puis les organismes sont extraits

de la gélose et séchés entre deux papiers filtre. Nous reproduisons Fig. 1, la photographie de la plupart des échantillons ainsi traités.

Les trois répétitions, dans chaque série, sont très homogènes et à peu près superposables en surface. Seules les séries n° 12 des organismes I et III présentent une différence de croissance entre leurs trois implantats (Voir par ex. III-12). L'un d'eux s'est développé un peu plus que les deux autres, comme si un pleiomorphisme s'était produit au cours de la culture et se manifestait par l'apparition d'une forme résistante aux hormones. Le cas est d'ailleurs assez fréquent dans le genre *Trichophyton* <sup>(1)</sup>.

Le tableau I donne le résultat des divers examens.

TABLEAU I.

*Croissance des cultures de trois espèces de Trichophyton sur milieu SABOURAUD additionné d'hormones d'application en diverses concentrations.*

| N° des séries | 25 mai |     |       | 28 mai |      |       | 4 juin  |      |       |
|---------------|--------|-----|-------|--------|------|-------|---------|------|-------|
|               | I.     | II. | III.  | I.     | II.  | III.  | I.      | II.  | III.  |
| 0.            | +++    | +++ | +++   | +++    | ++++ | ++++  | infecté | ++++ | ++++  |
| 1.            | ++++   | +++ | ++++  | ++++   | ++++ | +++++ | ++++    | +++  | +++++ |
| 2.            | +++    | ++  | ++++  | +++++  | +++  | ++++  | +++++   | +++  | ++++  |
| 3.            | +++    | ++  | +++   | +++    | +++  | +++   | ++++    | ++   | ++    |
| 4.            | +++    | —   | ++    | +++    | —    | +     | ++++    | —    | ++    |
| 5.            | +++    | +   | +++   | +++—   | ++   | +++   | ++++    | +++  | +++++ |
| 6.            | +++    | 0   | ++    | +++    | +    | ++    | +++     | +    | ++    |
| 7.            | —      | 0   | 0     | +—     | 0    | 0     | 0+      | 0    | 0—    |
| 8.            | 0      | 0   | 0     | 0      | 0    | 0     | 0       | 0    | 0     |
| 9.            | ++++   | +   | ++    | +++++  | +++— | +++   | +++     | +++— | ++++  |
| 10.           | +++    | +   | ++    | ++++   | ++   | +++   | +++     | +++— | +++   |
| 11.           | +—     | +   | ++    | +++    | +    | +++   | +++     | +    | +++   |
| 12.           | +et 0  | 0   | —et 0 | +et 0  | 0    | +et 0 | + et 0  | 0    | +et 0 |

Légende : + + + + + : développement exubérant  
+ + + + : développement très intense  
+ + + : développement intense  
+ + : développement médiocre  
+ : développement très médiocre  
— : développement presque nul  
0 : développement nul

I. *Tr. Schoenleini*.

II. *Tr. violaceum*

III. *Tr. crateriforme*

<sup>(1)</sup> Dans un très beau travail (1946), W. ROBBINS et I. Mc VEIGH (5), étudiant

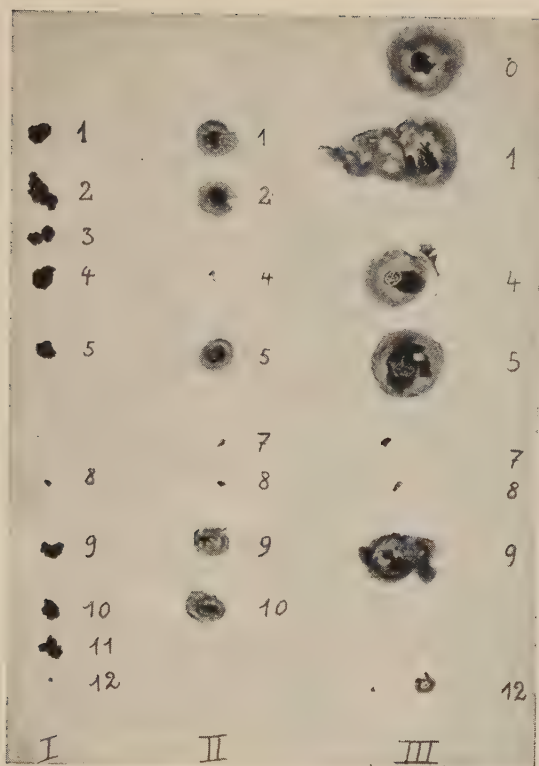


FIG. I.

Aspect de quelques cultures (tuées au formol et séchées entre papier filtre).  
Culture du 15 (mai, Photo du 5 juin.

I : *Trichophyton Schoënléini*

II : *Trichophyton Violaceum*

III : *Trichophyton Crateriforme*

sur milieu de Sabouraud contenant par litre :

0. milieu témoin
1. 20  $\gamma$  ‰ d'acide  $\beta$  Indol-acétique
2. 20 mgr ‰ d'acide  $\beta$  Indol-acétique
3. 200 mgr ‰ " " "
4. 1 gr ‰ " " "
5. 20  $\gamma$  ‰ d'acide  $\beta$  Indol-propionique
6. 20 mgr ‰ " " "
7. 200 mgr ‰ " " "
8. 1 gr ‰ " " "
9. 20  $\gamma$  ‰ d'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique (2-4 D.).
10. 20 mgr ‰ " " "
11. 200 mgr ‰ " " "
12. 1 gr ‰ " " "

Photo : R. SAUVEUR.



Les trois organismes ne réagissent pas exactement de la même manière :

I. *Trichophyton Schöenleini* n'est pas inhibé par l'acide  $\beta$  Indol-acétique aux doses utilisées. Il est inhibé fortement par l'acide  $\beta$  Indol-propionique et par l'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique à 200 mgr et 1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$ .

II. *Trichophyton violaceum* est inhibé fortement par l'acide  $\beta$  Indol-acétique à 200 mgr et 1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$  ; par l'acide  $\beta$  Indol-propionique à 20 mgr, 200 mgr et 1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$  et par l'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique à 200 mgr et 1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$ .

III. *Trichophyton crateriforme* est inhibé légèrement par l'acide  $\beta$  Indol-acétique à 1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$  et par l'acide  $\beta$  Indol-propionique à 20 mgr  $^{\circ}/_{\infty}$ . Il est inhibé fortement par l'acide  $\beta$  Indol-propionique à 200 mgr et 1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$  et par l'acide 2-4 Dichlorophénoxyacétique à 1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$ .

D'une manière générale, l'organisme le plus sensible est le n° II, *Trichophyton violaceum* ; le n° I, *Trichophyton Schöenleini* est le moins sensible.

Le milieu de Sabouraud utilisé dans nos essais a un pH de 6.5 — 6.7. L'addition de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 12  $\text{H}_2\text{O}$ , à raison de 0,340 gr  $^{\circ}/_{\infty}$ , amène le pH de 6.5 à 6.9 — 7. L'addition des trois premières doses, 20 $\gamma$ , 20 mgr, 200 mgr, des trois corps employés, n'abaisse pas sensiblement le pH ; le tampon ajouté le maintient aux environs du pH ordinaire du Sabouraud : 6.8 — 6.7. Seule la forte concentration de 1 gr  $^{\circ}/_{\infty}$  des différents corps l'abaisse assez considérablement jusqu'à 5.1 — 5.2.

Bien que nous n'ayons pas de témoin à pH aussi bas, nous croyons pouvoir conclure, sans erreur, que l'inhibition de croissance observée n'est pas due à un abaissement du pH du milieu de culture, d'abord parce que ces organismes sont extrêmement tolérants en ce qui concerne la réaction du milieu, ensuite parce

---

les réactions de divers Champignons et notamment de *Trichophyton mentagrophytes*, à l'addition d'hydroxy-proline et de 1-proline au milieu de culture, ont mis en évidence en cours d'expérience l'apparition brusque d'une race : T. 689 BB, particulièrement résistante à l'hydroxy-proline et dérivée d'une race sensible : T. 689 B, elle-même issue d'une culture âgée de la forme originale de *Trichophyton mentagrophytes* : T. 689 N.

que l'inhibition se constate aux doses de 20 mgr, 200 mgr  $\text{‰}$  d'acide  $\beta$  Indol-acétique et d'Acide  $\beta$  Indol-propionique qui n'abaissent pas le pH au-delà des limites du pH du Sabouraud ordinaire.

#### B. ACTION COMPARATIVE DES DIVERSES HORMONES D'APPLICATION EN MÊME CONCENTRATION MOLÉCULAIRE.

Dans le jeu des concentrations utilisées au cours de notre expérience préliminaire, les concentrations maximum 1 gr  $\text{‰}$  d'hormones, ajoutées au milieu de culture Sabouraud, montrent un effet bactériostatique nettement marqué.

L'état des cultures soumises à l'action des hormones ne peut être comparée judicieusement que si l'application se fait en concentrations moléculaires équivalentes et la plus rapprochée possible de 1 gr  $\text{‰}$ . Nous avons donc amené dans le milieu Sabouraud, les corps expérimentés à des concentrations très approximativement équimoléculaires : 0.0066 M.

Malgré l'utilisation du tampon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 12  $\text{H}_2\text{O}$ , les concentrations d'acides  $\beta$  Indol-acétique,  $\beta$  Indol-propionique et  $\beta$  Indol-butyrique, abaissent le pH d'environ une unité (de pH 6.5 à pH 5.6 à 5.7). Nous avons porté une culture témoin sur milieu Sabouraud au pH 4.6 au moyen d'Acide acétique, afin de la comparer aux cultures témoins de pH 6.5 à 6.9.

Nous avons en outre élargi les séries de corps expérimentés. Nous avons utilisé : les acides  $\beta$  Indol-acétique,  $\beta$  Indol-propionique,  $\beta$  Indol-butyrique ; les sels sodiques des acides 2-4 D, 2-5 D purs, 2-4-5 T (qualité technique de Solvay) ; les acides 2 méthyl-4 chlorophénoxyacétique (Méthoxon III de Solvay), 4 chlorophénoxyacétique (Dow chemical CO).

Les séries expérimentales ainsi réalisées se présentent comme suit :

| <i>Séries.</i>                                                                            | <i>pH</i> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 0. milieu Sabouraud pur                                                                   | 6.5       |
| 1.   »       »       + 0,312 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 12 $\text{H}_2\text{O}$ /litre  | 6.9       |
| 2.   »       »       + 1 cc micro-aliments R. et M. Bouillenne<br>par litre               | 6.4       |
| 3. 1 gr 1625 d'acide Indol-acétique + $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 12 $\text{H}_2\text{O}$   | 5.6       |
| 4. 1 gr 260 d'acide Indol-propionique + $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 12 $\text{H}_2\text{O}$ | 5.6       |

*phytohormones d'application sur la croissance de champignons, etc.*

|              |                                                                               |     |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5. 1 gr 350  | d'acide Indol-butyrique + Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 12H <sub>2</sub> O | 5.7 |
| 6. 1 gr 52   | d'acide 2-4 D sel sodique pur                                                 | 6.7 |
| 7. 1 gr 52   | 2-5 D sel sodique pur                                                         | 6.7 |
| 8. 1 gr 745  | 2-4-5 T sel sodique technique <sup>(1)</sup> (Solvay)                         | 6.7 |
| 9. 1 gr 333  | Méthoxon III Solvay + 0,100 Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                  | 7.  |
| 10. 1 gr 286 | d'acide 4 Chlorophénoxyacétique                                               | 4.6 |
| 11.          | milieu Sabouraud pur amené à pH 4.6 par acide acétique                        | 4.6 |

Les différents milieux sont coulés en boîtes de Pétri et ensemencés avec la même quantité approximative des trois souches de *Trichophyton* ; puis les boîtes sont placées en étuve à 25°.

Huit jours après le début de l'expérience, les cultures sont examinées et l'intensité de croissance mesurée. Les résultats permettent de constituer le Tableau II.

TABLEAU II.

*Croissance des cultures de trois espèces de Trichophyton sur milieu SABOURAUD additionné d'hormones d'application en concentrations équimoléculaires.*

| Séries | I. <i>Trichophyton</i><br>Schoenleini | II. <i>Trichophyton</i><br>violaceum | III. <i>Trichophyton</i><br>crat.iforme |
|--------|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|
| 0      | ++                                    | ++                                   | ++                                      |
| 1      | +++                                   | +++                                  | +++                                     |
| 2      | +++                                   | +++                                  | +++                                     |
| 3      | +++                                   | +                                    | -                                       |
| 4      | ++                                    | 0                                    | -                                       |
| 5      | +-                                    | 0                                    | 0                                       |
| 6      | ++                                    | ++                                   | ++-                                     |
| 7      | +++                                   | +                                    | ++                                      |
| 8      | 0                                     | 0                                    | 0                                       |
| 9      | +++                                   | ++                                   | ++++                                    |
| 10     | +++                                   | -                                    | +                                       |
| 11     | +++                                   | +++                                  | ++++                                    |

Légende :    ++++ : développement très intense  
                   ++++ : développement intense  
                   ++ : développement médiocre  
                   + : développement très médiocre  
                   - : développement presque nul  
                   0 : développement nul.

<sup>(1)</sup> Nous n'avions à ce moment à notre disposition qu'un produit mixte : mélange de 2-4 D, 2-5 D et 2-4-5 T. Les essais seront repris avec un produit purifié.

Le tableau II montre que :

1) l'abaissement à 4.6 du pH du milieu de culture ordinaire au moyen d'acide acétique (série n° II) n'a aucune action inhibitrice sur la croissance des trois organismes.

Les effets d'inhibition enregistrés dans l'expérience préliminaire dans les cas où le pH était bas, 5.1, 5.2, sont donc bien dus à l'action des molécules d'hormone comme telles et non à l'acidité.

2) l'acide  $\beta$  indol-butyrique est plus actif que ses homologues inférieurs,  $\beta$  indol-propionique et  $\beta$  indol-acétique. Pour les végétaux supérieurs, c'est généralement l'inverse qui se produit.

3) le 2-4 D sodique, employé dans cet essai, se montre moins actif que l'acide 2-4 D de l'expérience préliminaire. Ce fait est conforme aux résultats obtenus sur beaucoup de végétaux supérieurs. La réaction d'un même organisme varie selon que le radical acide est libre ou saturé par Na, une amine ou un ester. Elle a déjà été observée chez des Champignons (6).

4) l'acide monochlor-phénoxyacétique, en position 4, se montre inhibiteur sur deux espèces seulement de *Trichophyton* (II et III).

5) le 2-5 D sodique inhibe considérablement la croissance de *Trichophyton violaceum* (n° II) et n'a pas d'action sur le *Trichophyton Schöenleini* (n° I).

6) le 2-4-5 Trichlorphénoxyacétate de Na (qualité technique, dont la composition est polyvalente, mélange des divers homologues) se révèle comme un inhibiteur extrêmement puissant.

## II. RECHERCHES SUR DIVERS SCHIZOMYCÈTES

Nous avons utilisé comme matériel : I. *Staphylococcus aureus* (Coccacées), II. *Sarcina lutea* (Coccacées), III. *Pseudomonas aeruginosa* (Bactériacées) (1) et comme milieu de culture, un bouillon (pH 6.8) additionné de 0,312 gr ‰ de Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> 12 H<sub>2</sub>O, qui l'amène au pH 7.1.

(1) Ces souches nous ont été aimablement fournies par M. J. RAMAUT assistant à l'Université de Liège et Professeur de microbiologie à l'Institut Polytechnique de Liège.

A. ÉTABLISSEMENT DES CONCENTRATIONS INHIBANTES.

Les séries expérimentales sont réparties comme suit :

0. bouillon gélosé + Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>, 12H<sub>2</sub>O pH 7.1  
1. id. + 20 γ °/° d'acide β indol-acétique  
2. id. + 20 mgr °/° d'acide β indol-acétique  
3. id. + 200 mgr °/° d'acide β indol-acétique  
4. id. + 1 gr °/° d'acide β indol-acétique  
5. id. + 20 γ °/° d'acide β indol-propionique  
6. id. + 20 mgr °/° d'acide β indol-propionique  
7. id. + 200 mgr °/° d'acide β indol-propionique  
8. id. + 1 gr °/° d'acide β indol-propionique  
9. id. + 20 γ de 2-4 D sel sodique  
10. id. + 20 mgr °/° de 2-4 D sel sodique  
11. id. + 200 mgr °/° de 2-4 D sel sodique  
12. id. + 1 gr °/° de 2-4 D sel sodique

Les nos 4 et 8, dont le pH est devenu 6.4, sont ajustés au pH 6.9 par addition supplémentaire de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 12 H<sub>2</sub>O.

Les boîtes de Pétri sontensemencées en lignes (trois répétitions dans chaque série) avec les différents organismes, le 23 mai ;  
puis placées à 37° en étuve biologique.

Le tableau III donne le résultat après cinq jours.

TABLEAU III.

*Croissance des cultures de trois Schyzomycètes en milieu gelosé additionné d'hormones d'application à diverses concentrations.*

| Séries | I. St. aureus | II. S.lutea | III. Ps. aeruginosa |
|--------|---------------|-------------|---------------------|
| 0      | ++++          | ++++        | ++++ bleu vert      |
| 1      | ++++          | ++++        | ++++ bleu foncé     |
| 2      | ++++          | +++++       | ++++ vert pâle      |
| 3      | +++           | ++          | ++++ jaune vert     |
| 4      | ++            | 0           | ++                  |
| 5      | ++++          | ++++        | ++++ vert           |
| 6      | ++++          | +++         | ++++ vert           |
| 7      | +++           | +++         | ++++ jaune vert     |
| 8      | +             | 0           | ++++ jaune rose     |
| 9      | ++++          | ++++        | ++++ jaune vert     |
| 10     | ++++          | ++++        | ++++ vert           |
| 11     | ++++          | ++++        | ++++ vert           |
| 12     | +             | -           | ++++ rose et vert   |

Légende : + + + + + développement exubérant  
+ + + + développement très intense  
+ + + développement intense  
+ + développement médiocre  
+ développement très médiocre  
- développement presque nul  
0 développement nul

*Staphylococcus aureus* (n° I) est peu inhibé par les fortes concentrations (1 gr ‰) de l'acide  $\beta$  indol-acétique. Il est inhibé fortement par l'acide  $\beta$  indol-propionique, 2-4 D Na, aux mêmes concentrations.

*Sarcina lutea* (n° II) est inhibé par des doses moyennes et fortes (0,200 gr et 1 gr ‰) d'acide  $\beta$  indol-acétique ; par les doses fortes (1 gr ‰) d'acide  $\beta$  indol-propionique et 2-4 D.

Le corps le plus actif paraît être ici l'acide  $\beta$  indol-acétique.

Cependant, après une dizaine de jours, l'implantat dans le milieu additionné de ce dernier corps se met à croître ; ce qui indique soit une accoutumance de l'organisme, soit plutôt une décomposition progressive de l'acide  $\beta$  Indol-acétique qui s'altère toujours assez rapidement.

*Pseudomonas aeruginosa* (n° III) n'est inhibé que par l'acide  $\beta$  indol-acétique qui permet seulement un développement véritablement médiocre.

Cet organisme paraît peu sensible aux autres hormones d'application.

#### B. COMPARAISON DE L'ACTION BACTÉRIOSTATIQUE DE DIVERSES HORMONES D'APPLICATION A LA CONCENTRATION DE 1 GR ‰.

Dans cette expérience, le milieu de culture est comme précédemment un bouillon gélosé additionné (sauf la série O) de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  (0 gr 315 ‰).

Les séries expérimentales sont ainsi réparties :

| Séries. |                                                                                                | pH  |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 0.      | bouillon gélosé sans addition de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$          | 6.8 |
| 1.      | bouillon gélosé avec 0,gr 315 ‰ de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ /litre | 7.1 |
| 2.      | id. + 1 gr ‰ d'acide indol-acétique »                                                          | 7   |
| 3.      | id. + 1 gr ‰ acide indol-propionique »                                                         | 7   |
| 4.      | id. + 1 gr ‰ d'acide indol-butyrique »                                                         | 7   |
| 5.      | id. + 1 gr ‰ de 2-4 D sel sodique »                                                            | 7.1 |
| 6.      | id. + 1 gr ‰ de 2-3 D acide par litre                                                          | 7   |
| 7.      | id. + 1 gr ‰ d'acide naphthalène acétique »                                                    | 7   |
| 8.      | id. + 1 gr ‰ de 2-5 D sel sodique par litre                                                    | 7.1 |

Les milieux 2-3-4-6-7 ont été ajustés au pH de 7 par addition supplémentaire de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ . On implante les divers

organismes au centre de chaque boîte de Pétri (trois répétitions par série) et on place en étuve biologique à 37°.

L'évaluation de la croissance est établie respectivement après 5 et 15 jours (Tableau IV).

TABLEAU IV.

Croissance des cultures de trois Schizomycètes en milieu gélosé additionné de diverses hormones d'application à la concentration de 1 gr °/oo après 5 et 15 jours de culture.

| Séries | I. St. aureus |     | II. Sa. lutea |     | III. Ps. aeruginosa |       |
|--------|---------------|-----|---------------|-----|---------------------|-------|
| 0.     | ++            | +++ | +++           | +++ | ++                  | +++   |
| 1.     | ++            | +++ | +++           | +++ | ++                  | +++   |
| 2.     | ++            | +++ | ++            | ++- | 0                   | 0     |
| 3.     | 0             | -   | -             | -   | +-                  | +++++ |
| 4.     | -             | +-  | -             | -   | +-                  | +++++ |
| 5.     | 0             | -   | +             | -   | +                   | ++    |
| 6.     | -             | ++  | -             | 0   | +                   | ++    |
| 7.     | -             | +-  | -             | -   | ++                  | +++   |
| 8.     | -             | +   | +             | +   | ++                  | +++   |

Légende : +++++ développement exubérant  
+++++ développement très intense  
+++ développement intense  
++ développement médiocre  
+ développement très médiocre  
- développement presque nul  
0 développement nul

Ces résultats confirment ceux que nous avons constatés en ce qui concerne les corps déjà employés dans la première expérience :

*St. aureus* : pas d'inhibition de croissance dans l'acide  $\beta$  indol-acétique (1 gr °/oo) ; inhibition de croissance presque complète dans l'acide  $\beta$  indol-propionique et le 2-4 D sel sodique. Inhibition moins forte, mais cependant bien marquée dans l'acide  $\beta$  indol-butyrique, 2-5 D et l'acide  $\alpha$ -naphtalène acétique. Légère inhibition, dans la série du 2-3 D.

*Sarcina lutea* : inhibition légère dans l'acide  $\beta$  indol-acétique ; plus prononcée dans les acides  $\beta$  indol-propionique et butyrique. Inhibition très forte dans le 2-4 D et le 2-5 D. Inhibition presque totale dans le 2-3 D et l'acide naphtalène acétique (voir Fig. II).

*Ps. aeruginosa* : Inhibition totale dans l'acide  $\beta$  indol-acétique ;

se maintient après 15 jours; moins forte dans les acides  $\beta$  indol-propionique et butyrique et ne se maintenant pas après 15 jours; peu marquée dans les 2-4 D Na et 2-3 D mais encore décelable après 15 jours; pas d'inhibition dans l'acide naphthalène acétique et le 2-5 D.

Le résultat le plus marquant est obtenu avec *Sarcina lutea* après 15 jours de culture. La photographie illustre bien l'action de l'acide indol-acétique signalée page 588: l'inhibition est temporaire, puis la croissance reprend; le développement morphologique est cependant différent de celui des cultures témoins; l'aspect du mycélium devient gélatineux, translucide, jaune sale, par rapport aux témoins qui sont jaune vif <sup>(1)</sup>.

Les résultats obtenus dans ces quelques expériences sur microorganismes Schizomycètes, font entrevoir que l'action des hormones d'application s'y manifeste de manière encore plus variée que chez les végétaux supérieurs. En effet, on sait que chez ceux-ci, l'action dite *herbicide*, des produits hormonaux de synthèse varie selon les espèces pour des concentrations allant de 0,5 gr à 3 ou 4 gr par litre.

Il est à supposer que dans nos cultures, si nous avons employé des concentrations au-delà de 1 gr  $\text{‰}$ , nous aurions obtenu des inhibitions beaucoup plus considérables que celles que nous avons enregistrées. Néanmoins à la concentration de 1 gr  $\text{‰}$ , la spécificité d'action est très marquée.

Une illustration de ce fait est apportée par la Fig. III qui représente les boîtes de Petri ayant contenu les cultures de *Sarcina lutea*. Ces boîtes, ayant été ouvertes, toutes en même temps, au même endroit, pendant 10 minutes et remises en étuve révèlent après 15 jours l'action différentielle de chaque hormone sur les moisissures banales.

Il semble donc, que, comme pour les végétaux supérieurs, le comportement des divers groupes de végétaux inférieurs et particulièrement des Champignons sera très variable et peut-être pourra-t-on établir un rapport entre leur réaction aux hormones de synthèse et leur classement systématique.

<sup>(1)</sup> MORQUER R. et NYSTERAKIS F (1948) (7), signalent l'action de l'hétérauxin sur le dimorphisme de *Candida albicans*.

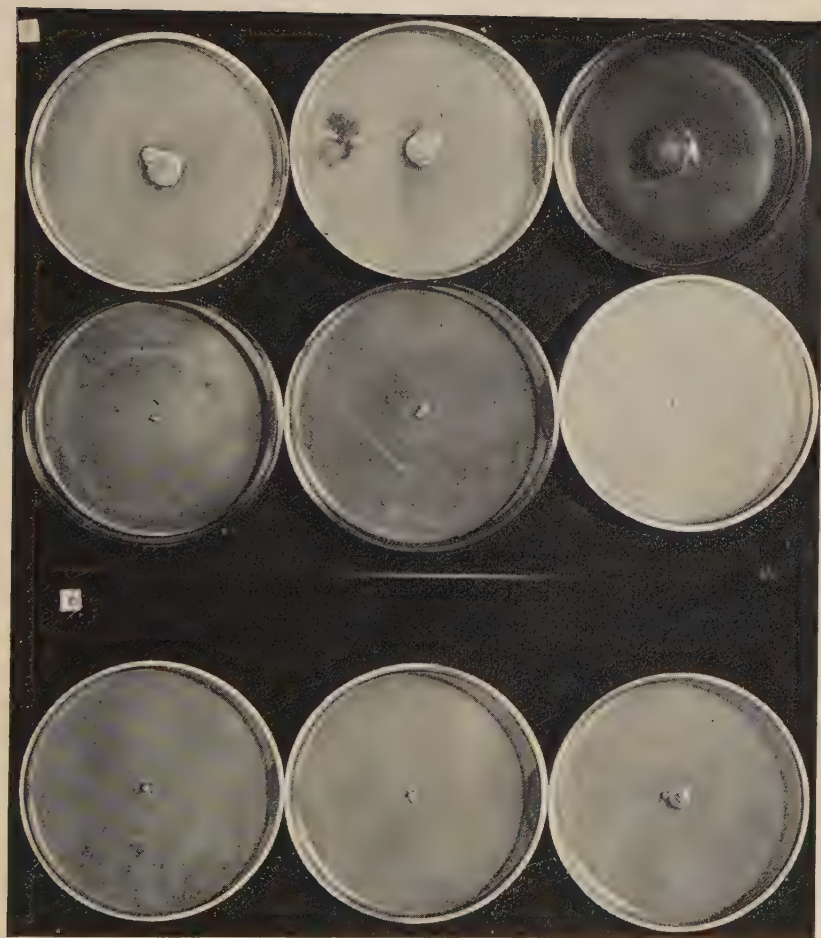


FIG. II. — Cultures de *Sarcina lutea*, âgées de 15 jours, sur bouillon gélifié montrant — de gauche à droite et de haut en bas : O = Témoin;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 1 gr  $\text{o}/_{\text{oo}}$  d'acide  $\beta$  indol-acétique; 1 gr  $\text{o}/_{\text{oo}}$  d'acide  $\beta$  indol propionique; 1 gr  $\text{o}/_{\text{oo}}$  d'acide  $\beta$  indol-butyrique; 1 gr  $\text{o}/_{\text{oo}}$  de 2,4 D.; 6 = 1 gr  $\text{o}/_{\text{oo}}$  de 2,3 D; 1 gr  $\text{o}/_{\text{oo}}$  d'acide  $\alpha$  naphthalène acétique, 1 gr  $\text{o}/_{\text{oo}}$  de 2, 5D. (Photos SAUVEUR).



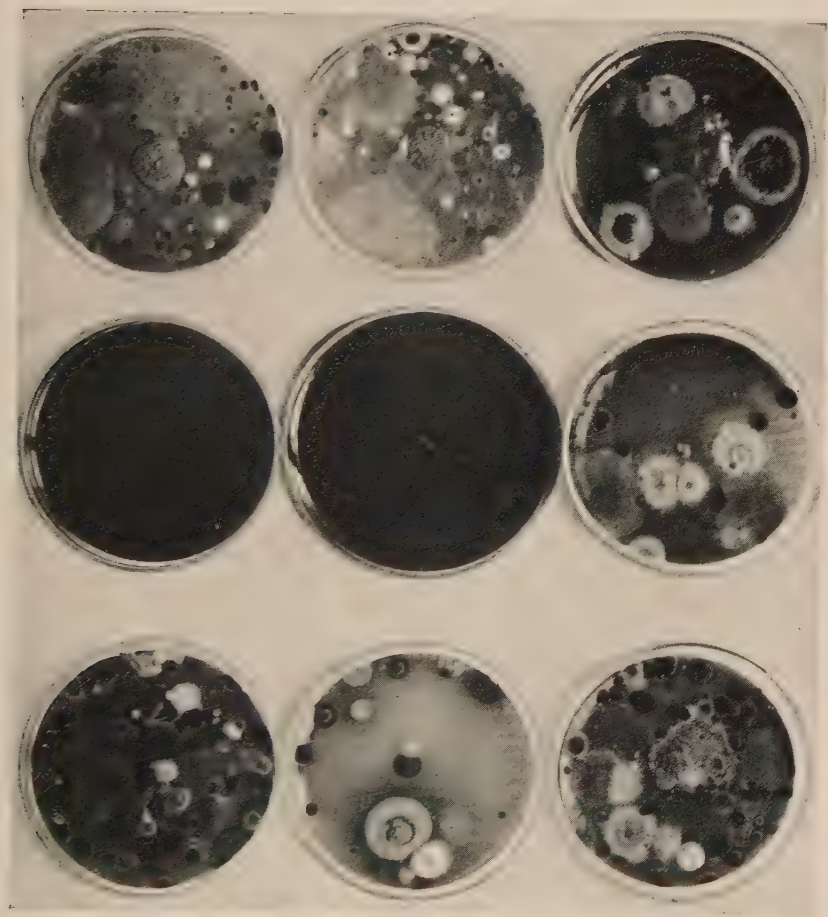


FIG. III. — Cultures de *Sarcina lutea* dont les boîtes de Petri ont été systématiquement ouvertes, pendant 10 minutes, et remises en culture. De gauche à droite et de haut en bas, même disposition que dans FIG. II. Remarquer que les boîtes contenant les acides  $\beta$  indol propionique et  $\beta$  indol butyrique ne contiennent aucun organisme en voie de croissance. (Photos R. SAUVEUR).



## CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les phytohormones d'application ont une action extrêmement variable sur la croissance des Champignons inférieurs parasites de l'homme, des animaux et des plantes. Cette action va, selon les espèces, de l'indifférence à l'inhibition totale de la croissance.

Continuant les expériences réalisées sur *Fusarium vasinfectum* qui provoque le Wilt du Coton, nous avons soumis à l'action de ces corps les cultures in vitro de *Trihophyton Schoenleini*, *Trihophyton violaceum*, *Trihophyton crateriforme*, et de trois Schizomycètes : *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Nous avons cherché pour les divers organismes et pour les hormones d'application utilisées, les concentrations bactériostatiques ; nous avons montré l'influence nulle sur *Trichophyton* du pH bas des certains milieux de culture et démontré que les organismes réagissent aux molécules elles-mêmes de ces corps actifs.

Nous avons expérimenté sur : les acides  $\beta$  indol-acétique,  $\beta$  indol-propionique,  $\beta$  indol-butyrique, les acides 2-4, 2-3, 2-5 dichlorophénoxyacétique (2-4 D, 2-3 D, 2-5 D) et sur le 2-4-5 T, acide trichlorophénoxyacétique.

D'une manière générale, les acides se sont montrés plus actifs que les sels sodiques et nous espérons déterminer dans des essais ultérieurs dans quelle mesure la fixation du groupe acide par des radicaux divers (sodium, amine, estérification) influence la pénétrabilité des corps dans les cellules et par conséquent la toxicité.

\* \* \*

L'innocuité de ces corps (8), pour l'homme et les animaux supérieurs, en fait une arme thérapeutique excellente pour la médecine humaine et vétérinaire. Appliqués judicieusement, ils peuvent rendre des services considérables. De plus, ils sont tous obtenus de synthèse et sont relativement peu coûteux.

Sur nos indications, M<sup>me</sup> MIXHEL-WALRAND (9-10), spécialisée dans les recherches chimiothérapeutiques des affections cutanées a pu mettre au point des solutions d'hormones d'application dans des véhicules pénétrants.

En collaboration avec de nombreux médecins, elle a ainsi traité des cas d'infections cutanées pénicillo-résistantes. Madame MIXHEL a bien voulu nous communiquer le rapport ci-après concernant deux cas particulièrement démonstratifs :

« L'acide  $\beta$  indol-propionique et l'acide 2-4-5 trichloro-phénoxyacétique ont été utilisés en mélange, à raison  
» de 25 mgr de chacun dans 10 cc. de la solution de base  
» pénétrante. Ce véhicule a été choisi de telle sorte qu'il ne  
» modifie pas l'action des produits actifs et qu'il assure à  
» ceux-ci une bonne conservation. Il est constitué de produits non-ioniques.

» Des affections banales d'intertrigo et des mycoses cutanées ont montré de rapides améliorations ; mais les résultats ont été particulièrement démonstratifs dans deux essais :

» Un cas (Docteur ANDRÉ Jean) d'eczéma infantile avec suppuration importante ayant résisté depuis trois mois aux traitements classiques et un cas (Docteur QUITIN) de dysidrose des mains infectées avec intolérance à la pénicilline.

» Dans ces deux essais, après 24 heures, l'amélioration a été spectaculaire et en quelques jours l'infection était jugulée.

» Les rapports des deux médecins sont joints en note <sup>(1)</sup>.

---

<sup>(1)</sup> Docteur M. QUITIN. Vaux-sous-Chèvremont. Cas Clinique... Eczéma des mains datant de plusieurs années, dysidrose purulente depuis 15 jours, en aggravation constante malgré les traitements classiques.

Échec de la pénicilline..., la troisième injection provoque sur les bras une poussée eczémateuse fortement aggravée par le produit, d'où arrêt de la pénicilline.

L'état des bras et de mains était identique, les bulles purulentes confluaient. Le majeur et l'annulaire de la main droite sont dans un état inquiétant (gonflés et cyanosés).

Devant l'insuccès des méthodes classiques, je demande à Madame MIXHEL de faire l'essai des nouvelles méthodes de traitement des dermatoses qu'elle étudie actuellement.

La malade reçoit : 1) En solution dans un excipient pénétrant, des produits inhibant le développement des parasites d'origine végétale (ces facteurs sont étudiés, *in vitro*, par R. et M. BOUILLENNE). 2) Compresses isotoniques au pH 6.8. 3) Suivant l'état des lésions, une pâte au pH 5 et une autre au pH 6.8

Le lendemain déjà l'amélioration est très satisfaisante et dépasse certainement

» De tels résultats heureux pourraient probablement être  
» généralisés, si l'identification de l'agent pathogène est  
» faite exactement et si le choix des hormones d'application  
» est judicieusement établi par des essais in-vitro comme  
» ceux qui ont été réalisés par M. et R. BOUILLENNE. Le  
» choix du véhicule employé sera évidemment déterminé  
» par la profondeur de la lésion.

» Le succès obtenu dans ces essais de traitement montre  
» combien se révèle utile la collaboration entre médecins,  
» botanistes et chimistes ».

\* \* \*

Les expériences sur l'action des phytohormones d'application dans les cultures in-vitro de Champignons inférieurs, ainsi que les essais réalisés par M<sup>me</sup> MIXHEL-WALRAND avec la collaboration de nombreux médecins pratiquants, sur des malades atteints d'affections cutanées, ont donné des résultats qui nous engagent à étendre les recherches relatées dans la présente communication, sur un grand nombre d'organismes pathogènes des hommes et des animaux.

---

le résultat que la médecine peut attendre des méthodes classiques de désinfection et de traitement des eczémats.

Les jours suivants les résultats sont tout à fait probants et la guérison est complète. Vaux-sous-Chèvremont, le 5-VII-51 (s) Dr. M. QUITIN.

Docteur Jean ANDRÉ, rue Vaudrée, Angleur. Cas Clinique... Eczéma infantile depuis l'âge de 9 mois. Infecté depuis trois mois (l'enfant a actuellement deux ans). Le cuir chevelu et la figure de même que les plis articulaires présentent à certains moments un véritable écoulement purulent à odeur prononcée de souris (Pathogénie d'origine végétale). Adénite peu importante.

Cet enfant est traité par les méthodes classiques par deux dermatologues de renom avec des résultats très inconstants et des récidives très violentes de plus en plus rebelles.

Devant cet insuccès et à la demande des parents, je surveille l'essai de nouveaux produits de synthèse étudiés par R. et M. BOUILLENNE et appliqués par G. MIXHEL-WALRAND au traitement d'infections cutanées pénicillo-résistantes.

La disparition de l'infection surajoutée à l'eczéma est spectaculaire.

Le traitement débute le 4 avril et le 11 avril toutes les croûtes sont tombées. Il n'y a plus, comme traces de suppuration, que quelques taches assez réduites, présentant un léger suintement. L'adénite a disparu. L'application de ces produits pendant une nuit améliore considérablement la suppuration sur les quelques taches récidivantes.

Cette infection particulièrement résistante a été jugulée en 8 à 10 jours.

Le traitement de l'eczéma lui-même se continue, il est d'ailleurs très amélioré. Angleur, le 6 juillet 1951. (s) Dr. J. ANDRÉ.

Nous sommes autorisés à croire que les hormones végétales d'application que nous avons étudiées depuis près de vingt ans, à l'occasion des réactions biologiques qu'elles provoquent sur les plantes supérieures, seront bientôt introduites dans l'arsenal pharmaceutique moderne et constitueront une arme efficace pour les traitements des affections externes dont la pathogénie relève des Champignons inférieurs.

*Institut Botanique de l'Université de Liège.*  
*(Laboratoire de Physiologie végétale et*  
*Centre de Recherches des Hormones végétales*  
*I. R. S. I. A.).*

---

#### BIBLIOGRAPHIE

1. R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. — De l'influence des Hormones végétales de synthèse sur la croissance de *Fusarium vasinfectum*. *Bulletin de l'Acad. Roy. Sci. Belgique*, juillet 1951, p. 557.
2. M. BOUILLENNE-WALRAND. — Considérations et Expériences sur les herbicides 2-4 D. et homologues. *Meded. Landbouwhoogeschool-Gent*. XV 1; 1950.
3. J. M. F. LEAPER et J. R. BISHOP. — Relation of Halogen position to physiological properties in the mono-di-, and trichlorophenoxyacetic acids. *Botan. Gaz.* 112 (3): 250-258, 1951.
4. R. C. MC LEAN et WR. YVIMEY COOK. — Plant Science Formulae. Mc. Millan and Co, London 1941.
5. W. ROBBINS et Ilda MC VEIGH. — Effect of hydroxyproline on *Trichophyton mentagrophytes* and other Fungi. *American Journ. Botany*, 33 (8), 638-648, 1946.
6. B. WAYNE et F. L. SLIFE. — Effect of 2-4 D. in culture medium on the Growth of three pathogenic Fungi, *Phytopath.*, 38-12, 1037-1038, 1948.
7. R. MORQUER et F. NYSTERAKIS. — Action de l'hétéroauxine sur le dimorphisme de *Candida albicans*. *CR. Ac. Sc. Paris* 226 (11), 950-951, 1948.
8. LEE LING. — Hormones Herbicides. *Études agricoles de la F. A. O.* Avril 1951.
9. M<sup>me</sup> MIXHEL-WALRAND. (présentée par P. de Gracianski). — Traitement local physiopathologique des eczéma et prurigos. *Bull. Soc. Franc. Dermat. et Syphil.* 5, 513-515, nov. 1949.
10. P. DE GRACIANSKI, M<sup>me</sup> MIXHEL-WALRAND et R. LECLERCQ. — Les agents mouillants et détergents en dermatologie. Applications à la désinfection profonde de la peau. *Bull. Soc. Franç. Dermat. et Syphil.* 5, 511-513; nov. 1949.

**Influence du pH sur l'action inhibitrice des hormones  
végétales de synthèse dans la croissance  
de *Trichophyton* (div. sp.)**

par R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND

Université de Liège

Notre propos est d'exposer les résultats enregistrés dans le comportement, en fonction du pH du milieu, de trois espèces de *Trichophyton* : *Schönleini*, *violaceum*, *crateriforme* cultivées sur milieu de Sabouraud (1) additionné de diverses hormones de synthèse.

\* \* \*

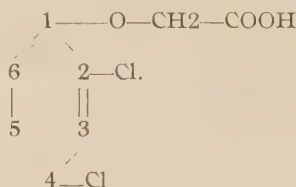
Dans deux notes préliminaires que nous avons récemment publiées (1-2), nous avons montré de façon nette que la sensibilité de certains Champignons inférieurs et Bactéries parasites (des animaux ou des végétaux) vis-à-vis des hormones de synthèse est absolument comparable à ce qui se passe chez les végétaux supérieurs : pour une même dose de produit, la réaction peut être fort différente selon l'espèce expérimentée, selon aussi la formule chimique du corps employé ; par exemple, *Fusarium vasinfectum* Atk, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, sont extrêmement sensibles à l'acide B Indol-propionique et beaucoup moins à l'acide B Indol-acétique, tandis que *Pseudomonas aeruginosa* est très sensible à l'acide B Indol-acétique et beaucoup moins à l'acide B Indol-propionique.

Nous avons aussi établi que les résultats obtenus « in vitro » permettent des applications extrêmement intéressantes dans le domaine de la médecine humaine ou vétérinaire. Incorporées à des excipients judicieusement choisis pour assurer une pénétration et une absorption des radicaux actifs, les hormones de synthèse peuvent constituer un instrument extrêmement im-

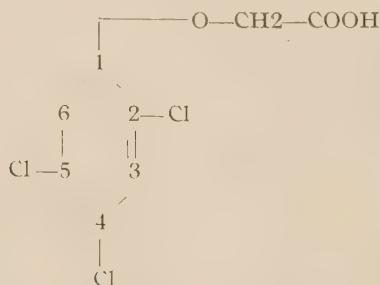
portant de la thérapeutique des maladies parasitaires d'origine végétale. La guérison des dermatophytoses humaines si nombreuses, particulièrement dans les régions chaudes, pourra d'ici peu se trouver considérablement améliorée par l'introduction dans l'arsenal pharmaceutique de pâtes aux hormones de synthèse comportant principalement les homologues supérieurs de l'hétéroauxine comme l'acide B indol-propionique et les herbicides sélectifs à base de 2-4 D et 2-4-5 T (\*) (\*\*).

Ces derniers corps, utilisés en énormes quantités dans la pratique agriole et horticole, présentent des avantages considérables : ils ont relativement peu d'odeur, ne sont ni irritants, ni toxiques pour les hommes et les animaux (3). Ils sont en cela bien supérieurs aux thiocyanates et isothiocyanates dont on a essayé depuis longtemps et sans grand succès, d'utiliser

(\*) Le 2-4D ou acide 2-4 di-chlorophénoxyacétique a pour formule :



Le 2-4-5 T a un Cl en plus fixé en position 5 :



(\*\*) Des essais cliniques effectués par quelques médecins, au moyen d'une pâte préparée par M<sup>me</sup> MIXHEL-WALRAND (2) et contenant un mélange d'acide B Indol-propionique et de 2-4-5 T (sel sodique, qualité technique de Solvay et C<sup>ie</sup>) ont amené des guérisons très rapides de dermatophytoses rebelles à la pénicillothérapie.

les propriétés antifongiques (4-5) pour le traitement des maladies de la peau. Tout récemment encore (1951), LANDIS, KLEY et ERCOLI (6) ont étudié plus de 100 préparations des dérivés aryl et oxy-alkyl des thiocyanates et isothiocyanates, avec le but d'en trouver qui soient antifongiques et qui ne présentent plus les caractéristiques des thiocyanates (lacrymogènes, irritants, odeur déplaisante) dont l'usage est peu recommandable.

Il est intéressant de noter que ces auteurs signalent comme particulièrement fongistatiques et fongicides les phénoxypropylthiocyanates; ils attirent l'attention sur le fait que ces derniers sont beaucoup plus actifs que les dérivés phénoxyéthyl.

Cette constatation est à rapprocher du fait qu'en 1950, nous avons montré que l'acide Indol-*propionique* est beaucoup plus inhibiteur que l'acide Indol-acétique vis-à-vis de *Agaricus hortensis* Cooke, *Albida*, Lange.

Mc DAVIS et DANIELS d'autre part (1951-7) étudient les éventuelles propriétés fongistatiques des dérivés de l'Acé-naphtène et concluent que des onze composés essayés, aucun ne s'est montré actif contre *Trichophyton mentagrophytes*, tandis que nos expériences sur trois *Trichophyton* pathogènes : *Trichophyton Schönleini*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton crateriforme*, ont révélé l'activité remarquable de :

|                             |                                    |
|-----------------------------|------------------------------------|
| l'acide Indol-propionique   | : 1 gr $\frac{0}{100}$ au pH 5.1.  |
| l'acide 2-4 D               | : 1 gr $\frac{0}{100}$ au pH 5.1.  |
| le 2-4-5- T sel sodique (*) | : 1 gr $\frac{92}{100}$ au pH 6.5. |
| (technique)                 |                                    |

\* \* \*

Un point capital à considérer dans des expériences de ce genre est celui de pH, soit du milieu de culture, soit des pâtes d'application.

Nous avons montré dans notre première note : Action des

---

(\*) N'ayant pas à notre disposition à cette époque du 2-4-5 T pur, nous avons dû utiliser un produit dit qualité technique de Solvay et qui se compose principalement de : 2-4-5 T Na et autres phénoxyacétates.

acides Indol-acétique, Indol-propionique, etc. sur la croissance de *Fusarium vasinfectum*, Atk, que l'abaissement du pH du milieu comme tel n'inhibe pas la croissance; en effet, au pH 3.6 du milieu de culture, obtenu par l'acide acétique, il n'y a aucun retard dans la croissance; tandis qu'au pH 3.9, créé par l'introduction, dans le milieu, de 1 gr.  $\frac{0}{100}$  d'acide B Indol-propionique, l'arrêt de croissance est total.

Nous avons d'autre part constaté que si, aux pH de 3.9, 4.9, 5.1, le 2-4 D acide et l'acide B indolpropionique sont des inhibiteurs puissants de *Trichophyton sp.*, aux pH compris entre 5.7 et 6.9. leur pouvoir inhibiteur est fortement diminué.

Le pH règle la pénétration et l'absorption plus ou moins rapide du radical actif et beaucoup d'auteurs, travaillant la question des herbicides, ont souligné l'importance du pH du milieu pour la détermination de l'activité d'un corps, le pH *optimum* d'activité variant selon le corps examiné. L'un de nous, en 1949-1950 (8) avait souligné que le 2-4 D acide est beaucoup plus rapidement absorbé et plus actif que le 2-4 D sel Na.

Parmi d'autres travaux sur ce même sujet, citons les belles recherches de BLACKMAN (9) qui a montré que la différence d'intensité d'action d'une même concentration d'un corps actif sur certains organismes comme *Trichoderma viride* peut varier de 1 à 1.000 en fonction du pH. En ce qui concerne le 2-4 D dans son action sur la germination des spores de Champignons, WEI et LING (10) ont montré que ce corps à la concentration de 100 p.p.m (\*) et au pH 3.9 empêche la germination des spores de *Glocosporium collettrichum*, tandis qu'au-dessus du pH 4, l'activité du 2-4 D est beaucoup moins forte.

Il semble bien, pour certains Champignons tout au moins, que la forme acide des hormones soit beaucoup plus que la forme neutre capable de manifester son action inhibitrice de croissance. Certains auteurs (11) pensent que seule la forme

(\*) 100 p.p.m = 100 p. pour 1 million.

non dissociée des auxines et des facteurs de croissance est physiologiquement active.

Il importe donc au plus haut point de déterminer avec grande précision les conditions de pH dans lesquelles se trouvent les corps expérimentés.

\* \* \*

Nous nous proposons dans cette note d'exposer le comportement de trois espèces de *Trichophyton* : *Schönleini*, *violaceum* et *crateriforme*, vis-à-vis d'herbicides 2-4 D, 2-4-5- T etc... en rapport avec le pH du milieu (\*).

Nous avons choisi, comme sujets de nos premiers essais sur les champignons pathogènes, trois espèces de *Trichophyton*. parce que ce genre constitue un type bien marqué d'agent responsable de dermatophytoses rebelles à beaucoup de traitements (\*\*).

Nous complétons dans le tableau I les résultats de trois expériences partiellement publiés ailleurs.

(\*) Rappelons que dans nos expériences sur *Fusarium vasinfectum* Atk. nous avons utilisé uniquement le sel sodique du 2-4 D, incorporé dans un milieu à pH supérieur à 4. L'influence de pH variés y sera examinée dans une prochaine note.

(\*\*) Dans une toute récente monographie, R. VAN BREUSEGHEM s'est attaché à la diagnose et à la systématique des Teignes du Congo Belge; Dr. R. VAN BREUSEGHEM - Diagnose et systématique des Dermatophytes. Contribution à la connaissance des Teignes du Congo Belge.

Ext. des *Ann. Sté Belge Méd. Tropic.*, 30 (4); 1950 (p. 866-986).

Tableau I

Tableau récapitulatif des expériences sur *Trichophyton* (3 espèces) cultivées sur Sabouraud additionné de divers produits herbicides et agissant à différents pH.

| Produits                     | Concentrations        | pH des solutions | I.     | II. | III.   |
|------------------------------|-----------------------|------------------|--------|-----|--------|
| Témoin                       |                       | 4.6              | +++    | +++ | +++    |
|                              |                       | 5.1              | +++    | +++ | +++    |
|                              |                       | 6.5              | +++    | +++ | +++    |
|                              |                       | 6.9              | +++    | +++ | +++    |
| Acide Indol- acétique        | 1) 1 gr 0/00          | 5.2              | +++    | —   | ++     |
|                              | 2) 1 gr 16 (0.006 M)  | 5.6              | +++    | +   | —      |
|                              | 3) 1 gr 28 (0.007 M)  | 6.8              | +++    | +++ | +++    |
| Acide B In- dolpropio- nique | 1) 1 gr 0/00          | 5.2              | O      | O   | O      |
|                              | 2) 1 gr 26 (0.006 M)  | 5.65             | ++     | O   | —      |
|                              | 3) 1 gr 38 (0.007 M)  | 6.8              | +++    | +++ | +++    |
| Acide B In- dol-butérique    | 2) 1 gr 35 (0.006 M)  | 5.7              | +—     | O   | O      |
|                              | 3) 1 gr 48 (0.007 M)  | 6.8              | +++    | +++ | +++    |
| 2-4 D                        | 1) 1 gr 0/00          | 5.1              | — ou O | O   | O ou + |
|                              | 2) 1 gr 52 (0.006 M)  | 6.7              | +++    | +++ | +++    |
|                              | 3) 1 gr 664 (0.007 M) | 6.5              | +++    | ++  | +++    |
| 2-5 D                        | 2) 1 gr 52 (0.006 M)  | 6.7              | +++    | +   | ++     |
|                              | 3) 1 gr 664 (0.007 M) | 6.5              | +++    | +++ | +++    |
| 2-4-5 T. Na technique        | 2) 1 gr 745 (0.006 M) | 6.7              | O      | O   | O      |
|                              | 3) 1 gr 92 (0.007 M)  | 6.5              | O      | O   | O      |

I. : *Trichophyton Schönleini* ou *Achorion Schönleini*

II. : *Trichophyton violaceum*

III. : *Trichophyton crateriforme*

Légende : +++ développement normal.

++ développement médiocre.

+ développement très médiocre.

— inhibition de croissance presque totale.

O » » totale.

La fig. 1 montre l'aspect, après 15 jours, des cultures de la 3<sup>me</sup> expérience du tableau I, cultures réalisées toutes sur milieu approximativement neutre (6.5 - 6.8).

On voit qu'en dehors du 2-4-5 T sel Na technique, les hormones ont peu d'action sur la croissance de *Trichophyton* sp.

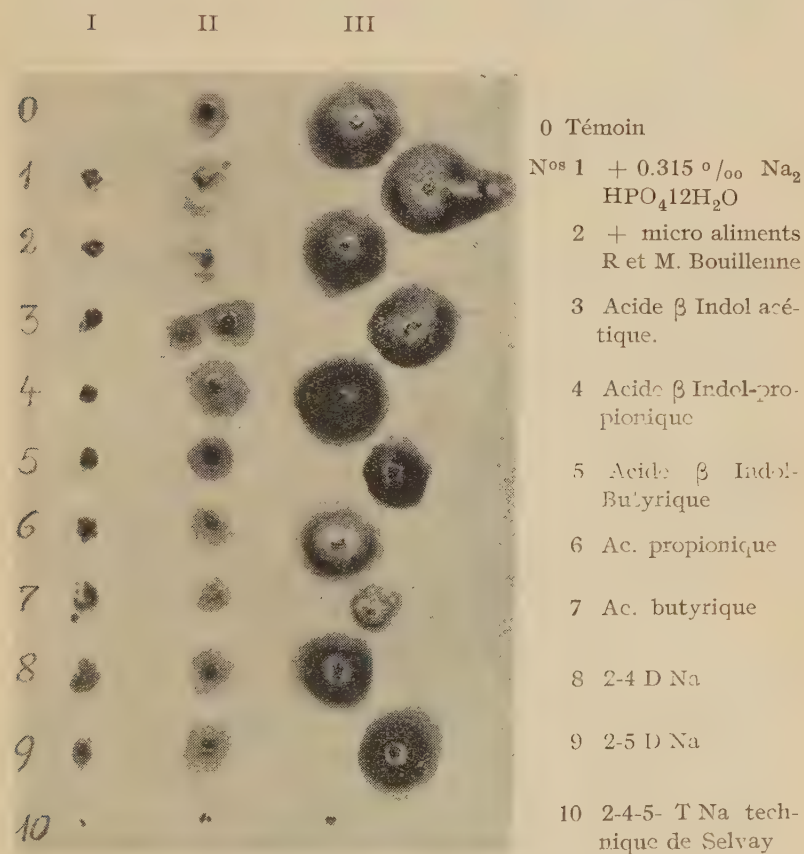


FIG. 1

Photo R. Sauer.

Cultures de *Trichophyton* :

I *T. Schönleini*  
 II *T. violaceum*  
 III *T. crateriforme*

Ce résultat n'est pas du tout conforme à ce que nous avons obtenu dans notre première expérience où l'on a vu que les produits essayés dans des milieux aux pH de 5. - 5.1 se montraient inhibiteurs de la croissance. Il nous a paru nécessaire de le vérifier de plus près.

Dans le nouvel essai que nous rapportons en entier, trois séries expérimentales sont prévues à trois pH différents :

- 1) pH 4.5 - 4.9
- 2) pH 5.5 - 5.8
- 3) pH 6.5 - 6.9

Ces séries sont obtenues en partant de deux milieux de Sabouraud, l'un contenant par litre 50 cc d'acide acétique à 10 °/oo et ayant un pH de 4.7;

l'autre contenant par litre 0,600 gr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $12\text{H}_2\text{O}$  et ayant un pH de 6.9 - 7.

Dans la première partie de l'expérience,

Nous utilisons les hormones suivantes :

- 2-4 D acide pur
- 2-4-5- T acide pur
- 2-4-5 T Na technique de Solvay.

Nous avons vu dans l'expérience précédente que ce dernier corps manifeste, quant à son action toxique, une indifférence inattendue vis-à-vis du pH du milieu. Celle-ci peut provenir soit de la présence simultanée de tous les dérivés 2-4, 2-5, 2-6, 2-4-5-, 2-4-6 phénoxyacétiques agissant en synergie soit du fait que ce corps contient comme impureté un fongicide puissant qui n'est pas un acide et qui par conséquent ne subit pas de transformation sous l'influence du pH; sa vitesse de pénétration dans les cellules ne serait donc pas fonction du pH.

Les milieux sont constitués de la manière suivante :

|             |                                                                              |           |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
|             |                                                                              | pH        |
| Témoin      | 1) Sabouraud pur                                                             | 6.4       |
|             | 2) Sabouraud pur + 0,600 ‰ Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                  | 6.9       |
|             | 3) Sabouraud pur + 50 cc ‰ solution d'ac.<br>acét. 10 ‰                      | 4.7       |
| Acides      | 50 cc solut. 2-4 D ou                                                        | 4.8 - 4.9 |
|             | 50 cc. solut. 3                                                              |           |
| 2-4-5 T     | 100 cc. solut. 2                                                             | 5.7       |
| Sol 0.006 M | 100 cc solut. 2 + 0 gr I Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 12H <sub>2</sub> O |           |
|             |                                                                              | 6.8       |

Pour le 2-4-5 T Na (qualité technique) les pH désirés sont ainsi obtenus :

|                 |               |         |
|-----------------|---------------|---------|
|                 | 100 cc sol. 3 | pH 4.9  |
| 2-4-5 T Na      | 50 cc sol. 2  | pH 5.8  |
| sol. 0.006 Mol. | 50 cc sol. 3  |         |
|                 | 100 cc sol. 2 | pH 6.95 |

Les milieux sont stérilisés et coulés en boîtes de Pétri, selon la technique habituelle.

Chaque boîte de Pétri est inoculée par trois implantats de *Trichophyton* sp., implantats provenant de trois souches d'âges différents respectivement des 12, 19 et 29 juin.

Après dix et quinze jours de séjour à l'étuve biologique (26°) les cultures sont examinées; le tableau II donne les résultats obtenus.

Si aux pH de 4.8 - 4.9, les trois corps utilisés produisent une inhibition totale de la croissance, par contre aux pH 5.7 - 5.8 - et 6.8 - 6.9, le 2-4-D acide et le 2-4-5 T pur sont beaucoup moins actifs, particulièrement le 2-4 D.

Par contre,

Le 2-4-5 T sel sodique, qualité technique de Solvay, se montre remarquablement indifférent au pH en ce qui concerne son pouvoir inhibiteur.

A la concentration de 1 gr. 66 ‰ (0.006 M), il *inhibe totalement* la croissance des *Trichophyton* utilisés quel que soit le pH du milieu entre 4.7 et 6.9. La photo de la fig. II reproduit l'aspect de quelques-unes des cultures de cette expérience; les autres sont gardées en étuve pour expériences ultérieures.

TABLEAU II

|                        |        | TRICHOPHYTON |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|------------------------|--------|--------------|-------------------|------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--|
|                        |        | I            |                   |                        | II.               |                    | III.              |                   |  |
|                        | Ph     | après :      | 10 jours          | 15 jours               | 10 jours          | 15 jours           | 10 jours          | 15 jours          |  |
| Témoin                 | 1) 6.5 | Souches      | 1 2 3             | 1 2 3                  | 1 2 3             | 1 2 3              | 1 2 3             | 1 2 3             |  |
|                        |        |              | +++               | +++<br>+++             | +++               | +++<br>+++         | Infectés          |                   |  |
|                        | 2) 6.9 |              | ± ± ±             | +++<br>+++<br>+++      | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++  | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++ |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        | 3) 4.7 |              | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++      | infectés          |                    | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++ |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
| 2-4 D<br>acide         | 4.7    |              | 0 0 0             | 0 0 0                  | 0 0 0             | 0 0 0              | 0 0 0             | 0 0 0             |  |
|                        |        |              | +++<br>+++        | +++<br>+++<br>+++      | +++<br>+++        | +++ moi-<br>+++ si | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++ |  |
|                        | 5.7    |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        | 6.8    |              | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++      | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++  | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++ |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
| 1 gr 32 ‰<br>(0.006 M) | 4.9    |              | 0 0 0             | 0 0 0                  | 0 0 0             | 0 0 0              | 0 0 0             | 0 0 0             |  |
|                        |        |              | ++<br>++          | +++<br>+++<br>+++      | +++               | +++                | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++ |  |
|                        | 5.7    |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        | 6.8    |              |                   | ++<br>++ moi-<br>++ si | +++<br>— — —      | +++<br>+++         | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++ |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
| 2-4-5- T.<br>acide     | 4.9    |              | 0 0 0             | 0 0 0                  | 0 0 0             | 0 0 0              | 0 0 0             | 0 0 0             |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        | 5.8    |              | 0 0 0             | 0 0 0                  | 0 0 0             | 0 0 0              | 0 0 0             | 0 0 0             |  |
|                        |        |              | 0 0 0             | 0 0 0                  | 0 0 0             | 0 0 0              | 0 0 0             | 0 0 0             |  |
|                        | 6.95   |              | 0 0 0             | 0 0 0                  | 0 0 0             | 0 0 0              | 0 0 0             | 0 0 0             |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
| 1 gr 66 ‰<br>(0.006 M) | 4.7    |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        | 5.8    |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        | 6.95   |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |
|                        |        |              |                   |                        |                   |                    |                   |                   |  |

Expérience sur *Trichophytum Schönleini* (I) *T. violaceum* (II) *T. crateriforme* (III) cultivés sur milieu de Sabouraud amené à 3 pH différents et additionné de corps hormonaux.

Légende : +++ développement normal  
 ++ développement médiocre  
 + développement très médiocre  
 — inhibition de croissance presque totale  
 0 inhibition totale.

Chaque colonne verticale concerne une souche.

Le résultat absolument remarquable fourni par ce corps demande d'autres recherches et en premier lieu l'analyse précise de ses constituants.

Il importe au plus haut point de savoir si le pouvoir inhibant

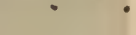
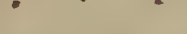
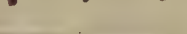
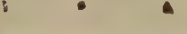
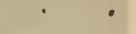
|                                    | pH  | Trichophyton III                                                                    | Trichophyton I                                                                      |
|------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Témoin                             | 4,7 |    |    |
| 2-4-5 T ac. pur                    | 4,7 |    |    |
|                                    | 5,7 |    |    |
|                                    | 6,8 |    |    |
| 2-4-5 T sel Na techn.<br>(Solvay). | 4,7 |    |    |
|                                    | 5,7 |    |    |
|                                    | 6,8 |    |    |
| 2-4-D ac. pur                      | 4,7 |   |   |
|                                    | 5,7 |  |  |
|                                    | 6,8 |  |  |

FIG. II  
Exp. du 13-10-51.

Photo du 29-10-51.  
Photo R. Sauveur

Cultures de *Trichophyton Schönleini* (I) et *crateriforme* (III) sur Sabou-  
raud additionné d'hormones de synthèse à différents pH. après 15 jours,  
les organismes sont tués au formol et placés sur papier filtre pour la  
photographie.

considérable trouvé dans le 2-4-5 T Na technique de Solvay est dû réellement à la présence simultanée de plusieurs dérivés phénoxyacétiques ou si la synergie mise en évidence dans nos expériences est due à une impureté de composition chimique différentes du 2-4-5 T et homologues, par exemple des phénols ou des aldéhydes.

De tels cas de synergie sont signalés dans la littérature. On en trouvera un exemple récent dans *Science* 1950 (12). Les 1, 1bis (-p-chlorophényl)-éthanol connu d'ailleurs comme miticide bien qu'il ne tue pas certaines mouches femelles (le p.p.-dichlorodiphényl-méthyl-carbinol est le D.M.C.) mélangé à raison de 1 % avec le D.D.T. provoque un effet de synergie très accentué dans le pouvoir insecticide du D.D.T. Le mélange de 10 % de D.M.C. au D.D.T. ou inversement de 10 % de D.D.T. au D.M.C. confère au principal constituant une activité et une toxicité beaucoup plus considérable que chaque constituant employé seul.

Nous avons déjà signalé que le mécanisme de ces actions synergiques est encore peu connu (\*).

L'activité extraordinairement accrue que confère au 2-4-5 T la ou les impuretés contenues dans le 2-4-5 T Na de Solvay justifie une étude très poussée de ce composé. Les résultats ouvriront à la pratique le moyen d'augmenter ou peut-être même d'orienter les actions biologiques des herbicides sélectifs.

Dans la deuxième partie de l'expérience, nous avons essayé sur le *Trichophyton crateriforme* (le plus résistant des organismes étudiés par nous), quelques composés phénoxyacétiques de qualité technique que nous possédions en laboratoire :

1) 2-5 D Na technique de Solvay comparé au 2-5 D acide pur.

2) Acide - 4 Chlorophénoxyacétique (de la DOW chemical Co sous le N° Ord. 48420 M - 813 - 46).

3) Un 2-4-5 T d'origine anglaise de L. Light et Co Old Bowry Labor. que nous comparerons au 2-4-5 T pur et au 2-4-5 T technique de Solvay.

4) Un 2-3 D acide pur de Solvay.

(\*) Note insérée en cours de publication.

Le Dr M. WELCH a publié dans la *Revue Médicale de Liège*, vol. VI, n° 16, pp. 547-555, 1951, une étude sur les actions de synergie ou d'antagonisme des médicaments utilisés en thérapeutique anti-infectueuse.

TABLEAU III

|                                             | pH<br>4,65 à 4,95 | pH<br>5,6 à 5,9   | pH<br>6,75 à 6,9  |
|---------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Témoin                                      | +++<br>+++<br>+++ |                   | +++<br>+++<br>+++ |
| 2-4-5- T Na technique                       | 0 0 0             | 0 0 0             | 0 0 0             |
| 2-4-5- T acide (Anglais)                    | 0 0 0             | 0 0 0             | ++ 0<br>++        |
| 2-5 D pur                                   | 0 0 0             | +++<br>+<br>+++   | +++<br>+++<br>+++ |
| 2-5 D Na<br>technique Solvay                | 0 0 0             | ++<br>— +         | +++<br>+++<br>+++ |
| 2-3 D acide pur                             | 0 0 0             | +++<br>+++<br>+++ | +++<br>+++<br>+++ |
| Acide 4<br>monochlorophénoxyacétique<br>DOW | 0 0 0             |                   |                   |

Expérience sur *Trichophyton crateriforme* (III) cultivé 15 jours sur milieu de Sabouraud amené à trois pH différents et additionné de corps hormonaux.

Chaque case du tableau représente trois implantats.

Légende : + développement normal; + développ. médiocre;

+  
+

+

+ développ. très médiocre; — inhibition presque totale; 0 inhibition totale.

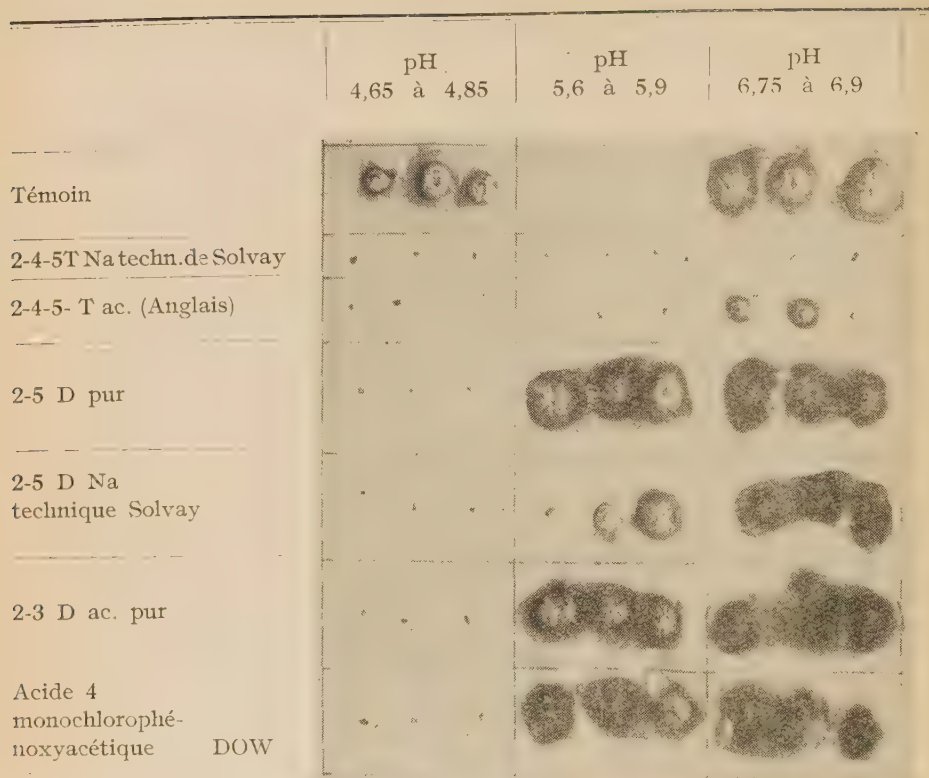


FIG. III.

Photo R. Sauveur

Cultures de *Trichophyton crateriforme* sur milieu additionné d'hormones de synthèses à différents pH. Après 15 jours, les organismes sont tués au formol et placés sur papier filtre pour la photographie.

Cette seconde partie de l'expérience est conduite dans les mêmes conditions que la première partie : solutions 0,006 Mol. des produits incorporés dans du Sabouraud à trois séries expérimentales de pH sont constituées :

1) pH 4.6, 4.7, 4.95; 2) pH 5.6, 5.9 3) pH 6.75, 6.9 et maintien des cultures à 26° C.

Le tableau III donne les résumés de constatations effectuées après 15 jours et la fig. III montre l'état des cultures tuées au formol au 15<sup>me</sup> jour de l'expérience.

De l'analyse du tableau, nous tirerons deux données importantes :

1) Le 2-5 D pur, le 2-3 D pur, le 4 Chlorophénoxy. composé de Dow. se comportent au point de vue de leur activité en fonction du pH exactement comme le 2-4 D et le 2-4-5 T acides purs; à la concentration de 0,006 Mol. ils empêchent la croissance de *Trichophyton* à un pH compris entre 4.7 et 5.2. Au pH de 5.7 à 6.8, l'inhibition ne se manifeste pas ou très peu; le 2-5 D Na technique au pH 5.7 retarde le développement de *Tr. crateriforme*.

Nous confirmons donc les résultats précédents : les 2-4 D et homologues sont actifs surtout au pH très acides.

Particulièrement sur les Champignons, l'influence du pH est déterminante. Cette donnée semble par ailleurs applicable non seulement aux herbicides mais à beaucoup d'autres corps à activité biologique considérable.

L'antibiotique « frequentine » isolé de *P. frequentans* par CURTIS, HEMMING et SMITH <sup>(13)</sup> agit comme antifongique à la dose de 2.5  $\mu$ . grm / m.l. au pH de 3.5. D'autre part, le pouvoir antibactérien de ce même corps est moins prononcé et se manifeste seulement à la concentration de 300  $\mu$  gr/ml comme inhibiteur de *St. aureus*. Or, on sait que les milieux de culture des bactéries ont généralement un pH très voisin de 7. et c'est peut-être dans l'influence décisive du pH sur l'absorption des corps actifs qu'il faut trouver une raison de la grande résistance manifestée par les bactéries.

2) Le 2-5 D Na technique de Solvay et le 2-4-5 T de Light et C<sup>o</sup> ont une activité intermédiaire entre celle des produits purs et celle du 2-4-5 T Na technique de Solvay.

Au pH de 5.7 - 5.8 l'effet de synergie est très net chez ces deux composés de qualité technique : Le 2-5 D Na est beaucoup plus inhibiteur que le produit pur. Le 2-4-5 T de Light et C<sup>o</sup> (anglais) est plus inhibiteur que le produit acide pur de Solvay.

Au pH de 6.7 - 6.9, seul le 2-4-5 T anglais manifeste encore un pouvoir d'inhibition appréciable.

Comment fonctionne le mécanisme des effets synergiques des herbicides que nous venons de mettre en lumière ? Pourquoi des combinaisons de corps actifs sont-elles plus toxiques que chacun des constituants, les concentrations totales étant respectées. On ne connaît encore à peu près rien sur ce sujet complexe.

On commence d'ailleurs à peine à obtenir des données scien-

tifiques sur le mécanisme de l'action toxique ou létale des substances de croissance (hormones, herbicides, etc...). Un tout récent travail (14) de MILLER et BURRIS sur l'effet des substances de croissance dans l'oxydation des acides ascorbique et glycolique par des enzymes d'Orge, rapporte que cette oxydation est inhibée par divers composés hormonaux à la concentration extrêmement basse de 0,0001 M. Les auteurs suggèrent l'hypothèse que l'activité herbicidale est due principalement à l'inhibition des enzymes respiratoires.

Dans l'état actuel de nos connaissances, il n'est donc pas possible de donner une explication rationnelle de la synergie manifesté par certains mélanges de substances actives et particulièrement de produits apparentés aux composés phénoxy-acétiques.

Ajoutons que dans un essai d'orientation, nous avons mélangé en quantités égales les 2-4 D, 2-5 D, 2-3 D, 2-4-5 T acides purs amenés au pH 5.8 puis implanté dans le mélange le *Tr. Schönleini*. Nous n'avons pas obtenu la reproduction de l'effet extraordinairement puissant du 2-4-5 T Na de Solvay. Il semble donc que l'impureté active de ce composé technique appartienne aux corps phénoliques utilisés pour la synthèse.

Dans un travail en cours, nous étudions plus spécialement le 2-4-5 T Na (qualité technique) de Solvay et nous chercherons à étudier les causes de son étonnante activité.

## CONCLUSIONS

Dans les recherches rapportées ci-dessus, nous avons utilisé comme souche, des mycélium en croissance active sur milieu nutritif de Sabouraud, de trois *Trichophyton* : *Schönleini*, *violaceum*, *crateriforme*.

On en peut tirer au point de vue des applications pratiques et notamment de la thérapeutique des mycoses de l'homme ou des animaux, des indications fort utiles :

- 1) La pénétration et l'absorption des produits actifs par les mycélium en quantités telles que la croissance de ceux-ci soit empêchée, est strictement dépendante d'un pH acide 4.5 - 4.5.

- 2) Le synergisme manifesté par certains produits dits tech-

niques que nous avons étudiées doit conduire à la recherche de mélanges de produits purs qui jouiront des propriétés biologiques comparables.

Institut de Botanique  
de l'Université de Liège  
(Laboratoire de Physiologie et Centre de Recherches de  
Hormones végétales de l'I.R.S.I.A.)

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1) R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND, De l'influence des hormones végétales de synthèse sur la croissance de *Fusarium vasinfectum* Atk. Bull. Ac. Roy. Belg. Cl. Sci., séance juin 1951; 532-541.
- 2) R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND Action de certaines phytohormones d'application sur la croissance de champignons inférieurs; *Tricophyton* div. sp., *Staphilococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Pseudomonas aeruginosa*, Bull. Ac. Roy. Belg. Cl. Sci., séance juillet 1951; 567-582.
- 3) LEE LING, Hormones herbicides. *Etudes agricoles de la F.A.O.*, avril 1951.
- 4) WALKER J.C., S. MORELL et H. H. POSTER, Toxicity of mustard oils and related sulfur compounds to certain fungi. *Amer. J. of Bot.*, 24, 536; 1937.
- 5) HOOKER W.Y. et J.C. WALKER, F.G. SMITHS, Toxicity of beta phenyl ethyl isothiocyanate to certain fungi, *Amer. J. Bot.*, 30: 632; 1943.
- 6) LANDIS L.D. KLEY, M. ERCOLI, Antifungal activities of a serie of Thiocyanates, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 40 (7); 321; 1951.
- 7) Mc DAVIS JAMES E. et TROY DANIELS, The fungistatic properties of acenaphtene derivatives, *J. Am. Pharm. Ass.*, 40 (7); 325; 1951.
- 8) M. BOUILLENNE, Considérations et Expériences sur les herbicides 2-4 D et homologues, *Symposium de Phytopharmacie*, Gand, 1950.
- 9) BLACKMAN, Conférences faites Université Liège, 1949.
- 10) WEI C.T. et K.C. LING, The effect of 2-4 D acid on the spore germination of fungi, *Bot. Bull. Acad. Sinica*, 2 (4) : 275-281; 1948.
- 11) VAN OVERBEEK, BLONDEAU et HORNE, Trans-cinnamic acid as an Anti-Aucin. *Amer. J. Bot.*, 38 (8); 589-596; 1951.
- 12) *Science*, 114 (2949); 6, 1951.
- 13) CURTIS, HEMMING et SMITHS, *Nature* 167 : 558; 1951.
- 14) J.H. MILLER Jr. R.H. BURRIS, Effect of plant growth substances upon oxidation of ascorbic and glycolic acids by cell-free enzymes from Barley, *Amer. J. Botany* 38 (7); 547-550; 1951.





(10795) *Couturick* Louvain

## Essai sur la floraison de *Begonia Semperflorens* Link. et Otto. dans le Phytotron

par C. SIRONVAL,

Docteur en Sciences,  
Chef de travaux à l'Université de Liège

---

### INTRODUCTION

Au cours de l'hiver 1950-1951, quelques praticiens liégeois nous ont demandé d'étudier le développement de *Begonia Semperflorens* Link. et Otto. afin de rechercher les moyens propres à hâter la floraison de cette plante et à améliorer sa culture d'hiver. On sait que, très souvent, l'horticulteur sème *Begonia semperflorens* en décembre-janvier afin d'obtenir des plantes à mettre en vente au début de mai.

La question qui nous a été posée a reçu une solution simple. Nous ne la décrirons pas ici, nous limitant à exposer quelques faits qui sont clairement apparus au cours de notre étude.

Nous avons constaté d'abord que, parmi les conditions complexes de la culture d'hiver, en serre chaude (16 à 18° C), la longueur courte du jour a une action considérable sur le développement de *Begonia Semperflorens*. En allongeant le jour d'hiver jusqu'à une durée de 15 à 16 heures, on obtient de grosses différences, toutes les autres conditions étant égales.

Cette constatation nous a amené à examiner de plus près l'influence de la longueur du jour sur le comportement de la plante et nous avons voulu travailler de telle sorte que tous les facteurs du milieu externe soient parfaitement contrôlés. Pareille exigence peut être satisfaite en utilisant les installations remarquables du Phytotron R. BOUILLENNE, fonctionnant grâce aux subsides de l'I.R.S.I.A., à l'Institut Botanique de l'Université de Liège. Le

Phytotron fixe la température d'air à 20°C constants (à 1° C près), l'humidité relative est maintenue constamment aux environs de 80 % et la lumière est fournie par des panneaux couvrant le plafond des chambres. Ces panneaux portent chacun 18 tubes à fluorescences contigus (A.C.E.C. n° L.F. 40-3.500) ainsi que trois lampes à incandescence de 200 Watts (Sigtay) et ils sont distants des cultures de 75 cm environ.

Dans ces conditions, nous avons semé des plantes de la variété « *Gracilis Rote Tausendschön* » le 10 décembre 1950. Le semis a eu lieu en terrines de terre cuite, de 20 sur 30 cm, dans un mélange de terre de bruyère et de sable fin dans la proportion de 2 à 1. Les graines ont été disposées en un duvet dense. Les repotages ont été effectués dans le mélange indiqué ci-dessus, selon la technique ordinaire du jardinage.

Dès le semis, nous avons fait deux séries : une première série a été placée en jours artificiels courts de 8 heures (la nuit étant de 16 heures), et une autre série en jours artificiels longs de 16 heures (la nuit étant de 8 heures).

#### I. — CULTURE DANS LE PHYTOTRON EN 16 HEURES DE LUMIÈRE ARTIFICIELLE

La germination se produit 10 à 15 jours après le semis. (20 à 25 décembre). Les cotylédons s'étalent rapidement à la surface du sol, surmontant un hypocotyle court. Immédiatement, on voit grandir la première feuille qui, au début de janvier est presque complètement étalée. De forme ovale, elle mesure environ 10 à 12 mmm de long et un peu moins de large. Les bords sont légèrement sinueux dans la partie supérieure -3 ou 4 proéminences y alternant avec des dépressions-, et dans la partie inférieure, ils sont marqués de 7 à 8 dents plus profondes surmontées de longs poils blancs (fig. 1). Les dents et les proéminences, (en tout de 10 à 12), coïncident avec l'aboutissement des nervures les plus grosses qui s'y terminent en un renflement caractérisé, dans l'épiderme, par la présence d'un groupe de quelques cellules plus petites (fig. 2). Le pétiole mesure environ 4 à 5 mm de long et il fait corps à la base avec deux stipules

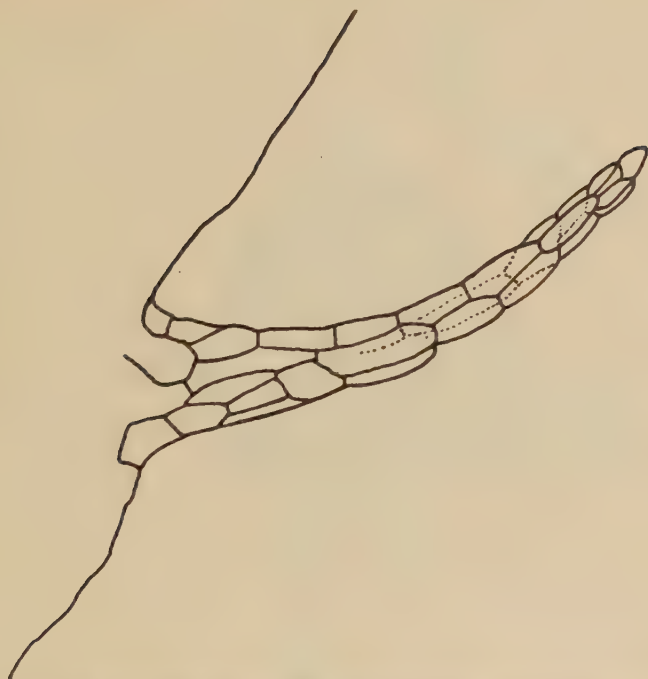


FIG. 1. — Un des longs poils blancs terminant les lobules qui découpent les bords du limbe. gross. 120  $\times$ .

foliacés, assez fortement dentés. L'entre-nœud entre l'insertion des cotylédons et celle de la première feuille reste très court (1 à 2 mm).

La deuxième feuille grandit lentement; le limbe, d'abord enroulé, s'entrouvre un mois environ après le semis. Il étale progressivement son contour franchement rond qui atteint, au début de février, 15 à 20 mm de diamètre. Comme pour la première feuille, le pourtour se divise en une série de lobules assez bien marqués, généralement terminés par un long poil, et qui sont irrigués chacun par une nervure bien apparente (fig. 3). Les lobules sont plus nettement découpés que chez la première feuille et leur nombre atteint généralement la vingtaine. Le pétiole est court (5 mm), assez épais, en contact à la base avec deux stipules grandes et dentées.

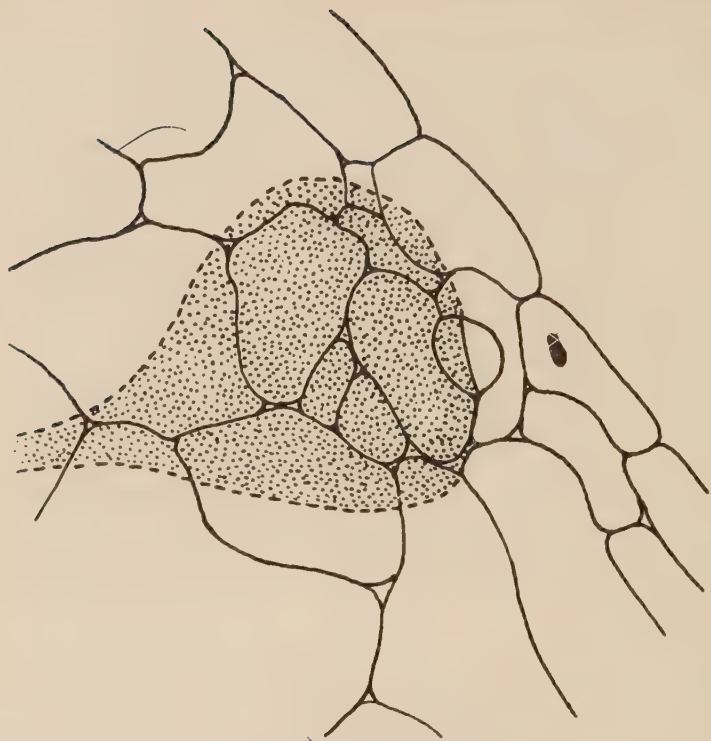


FIG. 2. — Zone de l'épiderme surmontant la terminaison d'une nervure qui est représentée en pointillé) gross. 200 ×

La croissance de la deuxième feuille coïncide avec plusieurs évènements particuliers, intéressant divers organes. On note d'abord une néoformation radiculaire abondante le long de la racine principale et le long de l'hypocotyle, jusqu'à la hauteur de nœud cotylédonaire; en même temps, le bourgeon axillaire de la première feuille pousse, tandis que le haut de l'hypocotyle (jusqu'à 3 mm sous le nœud cotylédonaire) et les deux premiers entrenœuds — très courts — de la tige commencent à gonfler.

Ces divers phénomènes se poursuivent et s'accroissent pendant qu'apparaissent successivement la 3<sup>e</sup> et la 4<sup>e</sup> feuille. Dès que chaque feuille est étalée, son bourgeon axillaire se développe, tandis que des racines nouvelles apparaissent de plus en plus



FIG. 3. — Le limbe de la deuxième feuille en 16 heures, dessiné peu avant son étalement complet. gross. 3 ×

nombreuses à partir des tissus âgés des racines déjà existantes, voire au niveau de l'hypocotyle et des premiers entrenœuds. Ces entrenœuds eux-mêmes (de l'insertion des cotylédons à celle de la 1<sup>re</sup> feuille; 1<sup>re</sup>-2<sup>e</sup> feuille; 2<sup>e</sup>-3<sup>e</sup> feuille; et même 3<sup>e</sup>-4<sup>e</sup> feuille) gonflent fortement sans s'allonger la moins du monde, entraînant dans ce processus le haut de l'hypocotyle. Il se forme progressivement un petit tubercule.

Entretemps, la troisième feuille achève de s'étaler jusqu'aux environs du 15 février et la 4<sup>e</sup> à la fin de février. Ces feuilles sont rondes, un peu allongées vers le sommet, et leurs dimensions atteignent successivement à l'état adulte 30 et 35 mm de diamètre. Le pourtour du limbe est plus profondément et plus nettement denté que chez les deux premières feuilles. Au total, il y a une trentaine d'échancrures séparant des lobules sur-

montés d'un poil blanc chez la troisième feuille et une quarantaine chez la quatrième. Les lobules sont assez régulièrement disposés; ils sont presque aussi nombreux à la base du limbe qu'à son sommet, en sorte qu'on en trouve à peu près partout un même nombre par cm de pourtour : 3 chez la troisième feuille et 4 chez la quatrième.

Pendant que la quatrième feuille s'étale, la cinquième commence à apparaître; la croissance de la cinquième feuille est terminée au début du mois de mars, deux mois et demi environ après le semis. Elle inaugure une étape de la vie, qui est notamment caractérisée par l'arrêt brusque des processus de tubérisation. Ces processus s'étaient progressivement accentués au cours de janvier et de février; mais ils cessent. La croissance du tubercule, qui a la forme d'un petit ballon d'un cm environ de diamètre formé par les entrenœuds inférieurs de la tige et le haut de l'hypocotyle, est stoppée. Quant aux nouveaux entrenœuds, ils ne tubérisent pas. L'entrenœud 3-4 gonfle plus ou moins fortement, mais l'entrenœud 4-5 s'allonge vers le haut lentement soulevant la cinquième feuille qui s'étale, ainsi que le bourgeon terminal. C'est le premier entrenœud qui s'allonge et les suivants font de même (voir la fig. 4).

L'arrêt de la tubérisation et l'allongement des nouveaux entrenœuds correspond à une modification nette de la grandeur et de la forme des limbes. Le diamètre du limbe de la cinquième feuille mesure une dizaine de mm de plus que celui de la quatrième; il a quarante à quarante cinq mm lorsque la feuille est adulte. De la 1<sup>re</sup> à la 5<sup>e</sup> feuille la grandeur du diamètre n'a donc pas cessé d'augmenter. On est passé successivement d'un limbe de 10 mm (1<sup>re</sup> feuille), à 20 mm (2<sup>e</sup> feuille), puis à 30 mm (3<sup>e</sup> feuille), puis à 35 mm (4<sup>e</sup> feuille), puis enfin à plus de 40 mm (5<sup>e</sup> feuille), selon une progression régulière. De même, l'augmentation du nombre de lobules, que nous avons constatés jusqu'ici de feuille à feuille, se poursuit de la 4<sup>e</sup> à la 5<sup>e</sup> feuille, mais elle s'avère nettement plus rapide à ce moment. On compte 40 lobules environ à la 4<sup>e</sup> feuille; il y en a plus de 100 à la 5<sup>e</sup>, si bien que, par cm de pourtour, on peut trouver chez cette



FIG. 4. — Une plante cultivée en 16 heures, dessinée pendant la croissance de la 7<sup>e</sup> feuille. On voit le tubercule, ainsi que les entrenœuds [4-5, 5-6] qui s'allongent. Nous avons représenté à un grossissement plus fort (5 ×) des échantillons du bord des 3<sup>e</sup>, 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> feuilles et nous avons indiqué les n<sup>os</sup> des feuilles successives, grandeur naturelle.

dernière feuille en moyenne 7 lobules plus ou moins marqués, tous terminés par le long poil blanc déjà décrit. De feuille à feuille, le nombre de lobules a donc augmenté d'abord faiblement (12 à la 1<sup>re</sup> feuille; 20 à la 2<sup>e</sup>; 30 à la 3<sup>e</sup>; 40 à la 4<sup>e</sup>), puis plus rapidement, atteignant brusquement 100 à la 5<sup>e</sup> feuille.



FIG. 5. — Une branche de *Begonia Semperflorens* qui a fleuri (en 16 h de jour) légèrement grossi.

Cette augmentation abrupte aboutit à l'acquisition par la cinquième feuille de la forme et de la grandeur qui va se répéter désormais chez tous les limbes suivants. Les caractéristiques des limbes se stabilisent et, avec la 7<sup>e</sup> feuille, on observe

l'apparition des premiers boutons floraux (fin du mois de mars; 3 mois et 1/2 après le semis).

Les boutons se forment, non pas au dépend du méristème terminal, mais au dépens du bourgeon axillaire d'une des dernières feuilles. Le bourgeon tout entier participe à cette construction. Il grandit en un axe généralement bifurqué, portant un certain nombre de bractées et quelques fleurs (fig. 5). Quant au bourgeon principal, il construit sans arrêt des feuilles nouvelles, de la même grandeur et de la même forme que la 5<sup>e</sup>, de l'aisselle desquelles partent les inflorescences. Ainsi, la forme de la 5<sup>e</sup> feuille est caractéristique de l'état sexué de la plante.

Ces observations montrent que le développement de *Begonia Semperflorens*, en 16 heures de lumière artificielle, dans les conditions du Phytotron, est marqué par la succession d'un certain nombre de stades morphologiques exprimant chacun un fonctionnement particulier :

1<sup>er</sup> stade : la germination et la croissance de la plantule avec ses cotylédons puis avec la première feuille.

2<sup>e</sup> stade : à partir de la 2<sup>e</sup> feuille jusqu'à la 4<sup>e</sup> feuille incluse, caractérisé par :

- a) l'apparition de feuilles de plus en plus grandes et de plus en plus compliquées;
- b) le non-allongement des entrenœuds et la formation d'un tubercule;
- c) la multiplication abondante des racines;
- d) la croissance des bourgeons axillaires en axes feuillés;

*C'est le stade de vie végétative de la plante.*

3<sup>e</sup> stade : à partir de la 5<sup>e</sup> feuille, caractérisé par :

- a) la stabilisation de la forme des feuilles;
- b) la fin de la tubérisation et l'allongement des nouveaux entrenœuds;
- c) la croissance des bourgeons axillaires en inflorescences.

*C'est le stade de la vie sexuée de la plante.*

Il est remarquable de constater combien la forme des feuilles — dans sa progression régulière au cours de la période de vie végétative, puis dans sa stabilisation ultérieure au cours de la période de vie sexuée — apparaît comme un indicateur sensible de l'état stadial.

## II. — CULTURE DANS LE PHYTOTRON EN 8 HEURES DE LUMIÈRE ARTIFICIELLE

Lorsqu'on sème *Begonia semperflorens* dans le Phytotron, en 8 heures de lumière artificielle, la germination se produit exactement comme en 16 heures, et la jeune plantule, avec ses deux cotylédons étalés, est vigoureuse. De faibles différences se marquent pourtant dès l'étalement de la première feuille et elles vont en s'accroissant par la suite.

On constate d'abord que le limbe de la première feuille adulte est un peu moins grand en 8 heures qu'en 16 heures et qu'il est découpé sur son pourtour par un nombre de lobules plus faible (2 ou 3 en moins qu'en 16 heures). La deuxième feuille approfondit cette différence qui devient encore plus nette avec la 3<sup>e</sup> et la 4<sup>e</sup> feuille. Chacune de ces feuilles a, en 8 heures, des dimensions plus faibles que la feuille correspondante en 16 heures, aussi bien en ce qui concerne le diamètre du limbe que la longueur et l'épaisseur des pétioles ou la grandeur des stipules. Le nombre de lobules découpant le pourtour du limbe de chaque feuille successive est légèrement plus faible en 8 heures. Enfin, chaque feuille grandit lentement l'une après l'autre, si bien qu'au moment où, à la fin de février, la 5<sup>e</sup> feuille est presque tout à fait étalée en 16 heures, en 8 heures par contre, cette même feuille commence à peine à croître.

A cela s'ajoute le fait que les entrenœuds restent courts; que les premiers d'entre eux, tout en gonflant légèrement, ne forment jamais un tubercule nettement distinct, comme c'est le cas en 16 heures; que les bourgeons axillaires croissent avec



FIG. 6. — Echantillons de jeunes plantes de même âge (1 mois et  $\frac{1}{2}$ ), cultivées d'une part en 8 heures (à gauche), d'autre part en 16 h. (à droite). La photo est prise au début de la phase végétative, pendant la croissance de la deuxième feuille. On voit qu'à ce moment, les plantes en 8 heures sont plus fragiles que celles en 16 heures. Grandeur naturelle.

beaucoup de retard, et qu'en outre la néoformation des racines est faible.

Il résulte de ce comportement un aspect fragile de la plante tendant à s'aggraver au fur et à mesure que le développement progresse dans la phase végétative (fig. 6).

Cet aspect disparaît pourtant pendant la croissance de la 5<sup>e</sup> feuille et des suivantes. En effet, l'apparition de la 5<sup>e</sup> feuille ne correspond pas, comme c'est le cas en 16 heures, à la stabilisation de l'évolution de la forme des limbes. Au contraire, cette évolution se poursuit, tandis que l'installation de la phase de vie sexuée est retardée. La 6<sup>e</sup> feuille est plus grande que la 5<sup>e</sup>; la 7<sup>e</sup>, plus grande que la 6<sup>e</sup>; la 8<sup>e</sup>, plus grande encore; et on finit par aboutir, avec la 9<sup>e</sup> feuille et les suivantes, à un limbe très grand, mesurant 50 à 60 mm de diamètre, découpé sur ses bords par un nombre impressionnant de lobules, dépassant



FIG. 7. — Quelques plantes adultes cultivées en 8 heures de jour, âgées de 5 mois. La floraison vient à peine de commencer. Les feuilles sont très grandes. Réduit 6 ×.



FIG. 8. — Quelques plantes adultes, de même âge que les précédentes, mais cultivées en 16 heures de jour. Réduit 6 ×.

3 centaines. Parallèlement, les pétioles ont 3 à 4 cm de longs; leur épaisseur va au delà de 1/2 cm et plus; les entrenœuds s'allongent fortement jusqu'à 5-6 cm; la section de la tige devient très large, atteignant près d'un cm de diamètre. La plante prend progressivement toute entière une allure géante (fig. 7 comparez avec la fig. 8).

Mais elle ne fleurit pas encore. Il faut généralement attendre, pour celà, l'épanouissement de la 10<sup>e</sup> feuille et parfois de plusieurs autres. A ce moment, l'un des derniers bourgeons axillaires, qui jusque là ont donné des ramifications feuillées, grandit en une inflorescence analogue par sa structure à celle de jours longs. Le stade sexué s'installe. Il est caractérisé par des inflorescences rares, dont les fleurs ont une coloration rouge très pâle, ainsi que par de grandes feuilles de 5 cm, toutes paireslles.

## DISCUSSION

Nos observations appellent quelques commentaires.

I. Elles montrent que, bien qu'un seul facteur, la longueur du jour, ait varié — le Phytotron nous permettant de fixer les autres d'une façon sûre —, les deux séries de plantes sont différentes sous divers aspects. La floraison a été retardée et elle a été rendue moins active par l'application de jours de 8 heures. Mais cet effet a été précédé de plusieurs autres s'échelonnant tout au long de la phase végétative de vie : la tubérisation des premiers entrenœuds ne s'est pas produite en 8 heures; la croissance a été moins rapide; la formation des racines, plus faible; la forme des feuilles a progressé plus lentement, et cette progression s'est poursuivie bien plus longtemps qu'en 16 heures. La floraison abondante en 16 heures correspond donc à un développement préalable déterminé; tandis que le retard de la floraison en 8 heures et sa faiblesse fait suite à un développement préalable différent. *La floraison apparaît nettement comme faisant corps avec le développement dont elle constitue une étape*

II. — Le développement s'exprime par une suite de changements morphologiques qui reflètent des transformations dans le fonctionnement physiologique. Nous avons décrit le déroulement de ces changements en jours longs de 16 heures et en jours courts de 8 heures. Les deux types de développement (en 8 heures et en 16 heures) se distinguent surtout l'un de l'autre à partir de la croissance de la 2<sup>e</sup> feuille. A ce moment, le comportement des plantes des deux séries diverge. Il ne s'agit pas simplement d'un décalage dans le temps, comme pourrait le croire un observateur qui s'en tiendrait à noter les dates des premières floraisons. Les divergences sont plus profondes et leurs caractéristiques varient fortement selon le stade que l'on envisage. Chez les jeunes plantes de deux ou trois feuilles, les jours courts réduisent la taille des organes. Mais, plus tard, tandis que se prolonge la phase végétative du développement, les plantes en jours courts prennent des formes géantes qui se conservent au stade sexué. La progression de la grandeur des limbes et du nombre de leurs lobules est particulièrement démonstrative à cet égard.

*En 8 heures de jour, la floraison se produit donc sur un organisme qui diffère du tout au tout de celui fleurissant en 16 heures.* Selon toute vraisemblance, les fonctionnements physiologiques diffèrent aussi, même s'ils permettent l'un et l'autre de la floraison. A notre avis, on ne peut pas parler d'« indifférence » à la longueur du jour.

III. — Il est intéressant de rapprocher le développement de *Begonia Semperflorens* en 8 heures, avec celui du fraisier des quatre-saisons placé dans les mêmes conditions de longueur de jour <sup>(1)</sup>. Dans les deux cas, lorsque les 8 heures sont appliquées à partir du semis, les premières feuilles sont plus petites qu'en 16 heures et la progression de leur forme plus lente; et, dans les deux cas, lorsque les 8 heures sont appliquées à la fin

---

<sup>(1)</sup> C. SIRONVAL : Recherches organographiques et physiologiques sur le développement du fraisier des quatre-saisons à fruits rouges. *Mém. Acad. Roy. Sci. Belg.*, 26, 1950.

de la phase végétative, peu avant la floraison, les feuilles deviennent énormes. A cet égard, les réactions aux jours courts sont donc fort analogues et peut-être se trouve-t-on devant une loi plus générale.

Cette loi pourrait s'exprimer comme suit :

*au cours de la phase végétative de vie, l'avancement du développement s'exprime morphologiquement dans les changements progressifs de certaines caractéristiques des limbes (par exemple la grandeur, la découpe des bords, voire d'autres aspects). Un retard dans le déroulement du développement modifie cette progression, la rend plus lente, tout en prolongeant la durée de la phase végétative, au cours de laquelle s'élaborent finalement des formes foliaires particulières.*

Laboratoire de physiologie végétale et Centre des Hormones végétales (I.R.S.I.A.) Institut de Botanique.  
Université de Liège.



## Progression discontinue de la formule dentaire chez le fraisier des quatre-saisons à fruits rouges

par C. SIRONVAL,

Docteur en Sciences,  
Chef de Travaux à l'Université de Liège

---

Nous avons signalé dès 1949-1950 <sup>(1)</sup> qu'en jours de 8 heures, appliqués en été dans une serre ordinaire ou en plein champ, la culture du Fraisier des quatre-saisons à fruits rouges est particulièrement difficile. Si les 8 heures sont appliquées à partir du semis, la plupart des plantes meurent. Le développement des survivantes est retardé et il n'aboutit jamais à la floraison; la progression du nombre de dents des feuilles successives se produit lentement.

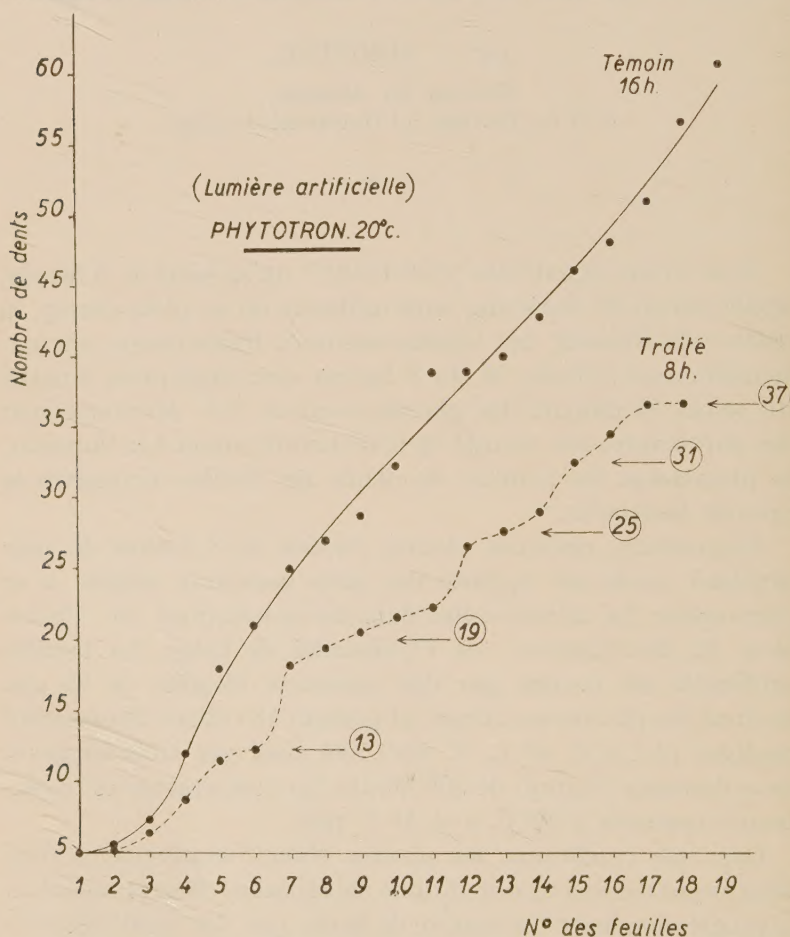
Récemment, quelques plantes élevées en 8 heures de jour artificiel nous ont apporté des faits nouveaux relatifs à ce phénomène. La culture a lieu dans les installations du Phytotron R. BOUILLENNE, de l'Université de Liège. La lumière artificielle est fournie par des panneaux éloignés de 75 cm. environ des plantes en culture, et portant 18 tubes à fluorescence contigus (A.C.E.C. n<sup>o</sup> L. F. 40-3.500) ainsi que trois lampes à incandescence (Sigtay) de 200 Watts. La température est maintenue constante à 20° C. à  $\pm 1^{\circ}$  C. près.

Dans ces conditions, les plantes vivent relativement bien; nous avons réussi à en obtenir une soixantaine. Toutes montrent la progression lente du nombre de dents que l'on peut observer aussi à la lumière naturelle, en serre ordinaire, la température

---

(1) C. SIRONVAL, Note sur les rapports entre la forme des feuilles et le développement du Fraisier des quatres-saisons à fruits-rouges, *Bulletin de la Cl des Sc.* 5<sup>me</sup> série, T. XXXV, 1949. (voir aussi le mémoire cité plus loin; page 539).

étant variable, lorsque le jour ne dure que 8 heures <sup>(1)</sup>. Mais il y a une différence : l'augmentation lente de la formule dentaire, au lieu de se produire d'une façon relativement continue, s'effectue nettement par bonds, d'une façon *discontinue*. A plusieurs



DIAGR. 1. — Progression du nombre de dents de feuille à feuille, en 16 h et en 8 h, dans le Phytotron. On distingue en 8 h un certain nombre de « plateaux », correspondant à la présence de nombreuses feuilles ayant 13, 19... dents.

(<sup>1</sup>) Cette progression s'arrête, lorsque le nombre de dents des feuilles a atteint le niveau de 40-45 dents.

reprises, au cours de son développement, la plante stationne à un niveau déterminé du nombre de dents pendant plusieurs feuilles successives, puis la progression reprend vers un niveau supérieur où un nouveau stationnement s'établit plusieurs feuilles durant (diag. 1).

Les niveaux de stationnement sont des niveaux bien précis, toujours les mêmes pour toutes les plantes : les niveaux de 13, 19, 25 et 31 dents. Le stationnement le mieux marqué s'observe au niveau de 19 dents. Certaines plantes se maintiennent à ce niveau pendant 5 feuilles successives.

Le passage d'un des niveaux stationnaires au niveau stationnaire supérieur se fait souvent très brusquement. Les feuilles dont la formule dentaire est comprise entre deux niveaux stationnaires successifs sont relativement rares. Parfois, on passe d'un niveau stationnaire au suivant sans aucun intermédiaire.

La tendance au stationnement, en 8 heures de lumière artificielle, à 20° C. constants, ne s'observe pas seulement lorsque les plantes sont cultivées dans ces conditions à partir du semis. Des plantes cultivées dans le Phytotron, en 16 heures de lumière artificielle, à 20° C. constants, jusqu'à la huitième feuille, puis remises en 8 heures dans les mêmes conditions de température, montrent aussi cette tendance dès le moment où le développement des plantes est retardé par la culture en 8 heures de jour artificiel. La progression de la formule dentaire se fait alors par bonds et les niveaux stationnaires sont ceux qui ont été cités plus haut.

\* \* \*

Nous avons antérieurement observé <sup>(1)</sup> sur des plantes dont le développement est normal, (cultivées en 16 heures de jours naturels et soumises aux températures variables du plein air ou de la serre), que certaines valeurs du nombre de dents étaient beaucoup plus fréquentes que d'autres. Mais, *jamaïs* nous n'avons constaté de stationnement à ces valeurs. On voit seulement

---

(1) C. SIRONVAL, Recherches organographiques et physiologiques sur le développement du Fraisier des quatre-saisons à fruits rouges, *Mém. Acad. Sc. Belg.*, 1951.

